MANUEL TECHNIQUE

DE

PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE

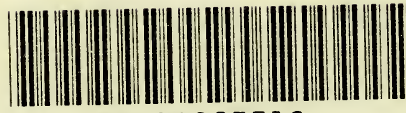
Par le D[r] W. DETMER

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ D'IÉNA

TRADUIT DE L'ALLEMAND

PAR

Le D[r] Henri MICHEELS



MANUEL TECHNIQUE

DE

PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE

TYPOGRAPHIE FIRMIN-DIDOT. — MESNIL (EURE).

MANUEL TECHNIQUE

DE

PHYSIOLOGIE VÉGÉTALE

Par le Dr W. DETMER

PROFESSEUR A L'UNIVERSITÉ D'IÉNA

TRADUIT DE L'ALLEMAND

PAR

Le Dr Henri MICHEELS

REVU ET AUGMENTÉ PAR L'AUTEUR

AVEC 130 GRAVURES DANS LE TEXTE

PARIS

C. REINWALD, LIBRAIRE-ÉDITEUR

15, RUE DES SAINTS-PÈRES, 15

1890

PRÉFACE.

Pour faire une étude sérieuse de la physiologie végétale, il ne suffit pas de suivre des leçons ou de parcourir des traités, il faut surtout se rendre compte par soi-même des méthodes expérimentales.

La physiologie des plantes a acquis aujourd'hui une telle importance pour les étudiants en sciences naturelles, en médecine, en agriculture et en sylviculture, qu'il conviendrait de lui réserver une plus large place que celle qu'on lui a faite jusqu'à présent dans le programme des universités et des autres établissements d'instruction supérieure. Il y aurait lieu avant tout de créer des exercices pratiques. J'en ai institué moi-même avec succès à l'université d'Iéna. J'ai pu constater ainsi que ces exercices ne soulèvent pas de difficultés insurmontables, comme il le semblerait de prime abord.

Mon but, en écrivant ce manuel, a été de faciliter l'étude de la physiologie végétale. Toutefois, ce livre n'est pas exclusivement destiné aux étudiants. Je me plais à croire qu'il sera favorablement accueilli également par les professeurs de sciences naturelles. La botanique est une branche d'enseignement qui a sa place marquée à l'école pour une foule de raisons. Des expériences de physiologie lui donneront un attrait spécial et elles en rehausseront l'importance comme moyen d'éducation pour la jeunesse.

Sans être identique à celui de mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie* (publié, en 1883, chez E. Trewendt, à Breslau), le plan de cet ouvrage s'en rapproche beaucoup. Dans le premier, les développements théoriques devaient nécessairement prendre une assez grande extension. Ici, ils font à peu près complètement défaut.

La publication de ce manuel m'a coûté un travail considérable pendant ces quatre dernières années. Afin de pouvoir juger de la valeur et du degré d'utilité des procédés d'expérimentation employés, je me suis

principalement attaché à effectuer un nombre très grand d'expériences physiologiques et d'observations microscopiques les plus variées. Tout en ne négligeant point la biologie des plantes, les relations entre la structure anatomique des organes et leur fonction physiologique ont été partout soigneusement mises en évidence.

Je me suis efforcé de donner la forme la plus simple possible aux appareils que nécessitent les expériences indiquées dans cet ouvrage, afin que ces dernières puissent être effectuées sans grande difficulté. Dans les recherches de physiologie végétale, on ne pourrait cependant se dispenser de certains appareils compliqués et par conséquent d'un prix élevé; tels sont, par exemple : un bon microscope, une balance de précision, un spectroscope, une bobine d'induction, un clinostat, etc.

W. Detmer.

Iéna, fin septembre 1887.

PREMIÈRE PARTIE

PHYSIOLOGIE DE LA NUTRITION

PREMIÈRE DIVISION.

LES ALIMENTS DES PLANTES.

I. L'ASSIMILATION.

1. Comment on peut constater que les plantes vertes jouissent de la propriété d'élaborer des substances organiques aux dépens de la matière inorganique.

Les plantes vertes jouissent de la propriété d'élaborer des substances organiques, c'est-à-dire carbonées et combustibles, aux dépens de la matière inorganique. Ce fait possède une si grande importance, et les expériences instituées pour le démontrer sont si instructives qu'elles réclament une attention toute particulière. Ces expériences peuvent être répétées en presque chaque saison, mais c'est en été qu'elles fournissent certainement les meilleurs résultats, parce qu'on rencontre alors les conditions les plus favorables pour la végétation. On peut employer utilement pour ces recherches : le maïs, le froment, l'avoine, le sarrasin ou les fèves.

Il s'agira donc de chercher d'abord à déterminer le poids en matières sèches des fruits ou des graines qui serviront aux expériences, afin de pouvoir apprécier leur contenu en substances organiques. Pour déterminer le poids en matières sèches des matériaux d'étude employés, préalablement desséchés à l'air, on réduit quelques fruits ou quelques graines, à l'aide d'un petit moulin, en une fine poudre dont on prend exactement le poids, et dont on prélève une légère quantité. On place environ 3 gr. de cette poudre dans un petit vase et on débarrasse la poudre de l'humidité qu'elle contient, dans une étuve chauffée à 100° C. On peut s'assurer en procédant de cette façon, que le poids en matières sèches des fruits ou des graines desséchés à l'air, atteint à peu près 85 %. Il est clair que le nombre ainsi obtenu représente non seulement la teneur en substances organiques, mais encore en éléments minéraux, dont le poids pourra être négligé tant il est minime.

Pour les cultures que nous aurons maintenant à effectuer, nous ferons choix de quelques fruits ou de quelques graines autant que possible complètement développés. Chacun des objets soumis à l'expé-

rimentation sera pesé à part, et son poids, noté. On pourra calculer le poids en matières sèches de chaque fruit ou de chaque graine pris isolément, par comparaison avec le résultat de l'évaluation de la teneur globale en matières sèches que nous avons effectuée. Pour les faire gonfler, nous mettons ces fruits ou ces graines isolément dans de petites capsules en verre ou en porcelaine contenant de l'eau, et on les laisse en repos pendant 12 à 24 heures. Puis, pour provoquer leur germination, on les dépose sur de la sciure humide contenue dans une caisse appropriée. Quand les germinations ont atteint une longueur de plusieurs centimètres, on les retire avec précaution, on les lave avec soin et on leur laisse ensuite poursuivre leur développement au moyen de la méthode de culture dans l'eau.

Nous employons, pour cet usage, des vases cylindriques spéciaux en verre, qui, lorsque nous expérimentons avec le maïs, doivent être assez grands pour contenir 1 lit. 1/2 de liquide. On peut aussi utiliser des vases plus petits pour des plantes de dimensions moindres. Les vases seront remplis, non avec de l'eau pure, mais avec une solution de substances nutritives, afin de pourvoir au besoin d'éléments minéraux que manifestent les plantes : sujet sur lequel nous reviendrons plus loin. Ces solutions sont préparées en grandes quantités, pour pouvoir opérer avec un certain nombre de plantes dans des conditions identiques, et conservées à l'obscurité dans des vases bien fermés. On obtient une solution nutritive convenable, en dissolvant, dans un litre d'eau, les quantités suivantes des corps désignés ci-après :

1 gr. de nitrate de calcium $Ca(NO^3)^2$;
0 gr., 25 de chlorure de potassium KCl;
0 gr., 25 de sulfate de magnésium $MgSO^4$;
0 gr., 25 de phosphate monopotassique KH^2PO^4.

A ce liquide, on ajoute quelques gouttes d'une solution étendue de chlorure de fer.

J'ai souvent obtenu de bons résultats en employant cette solution nutritive. On s'en procure une autre, très convenable, par la dissolution, dans un litre d'eau, des quantités suivantes des sels indiqués ci-dessous :

1 gr. de nitrate de potassium;
0 gr., 5 de chlorure de sodium;
0 gr., 5 de sulfate de calcium;
0 gr., 5 de sulfate de magnésium;
0 gr., 5 de phosphate tripotassique.

On fera usage de phosphate tripotassique très finement pulvérisé, car ce sel se dissout fort difficilement dans l'eau et formerait un précipité dans les vases de cultures. Enfin, on ajoute également à ce liquide quelques gouttes d'une solution étendue de chlorure de fer.

Après avoir rempli les vases de la solution nutritive, on les ferme au moyen d'un bouchon percé d'une grande ouverture et, avec de l'ouate, on assujettit une germination dans cet orifice (voy. fig. 1). Chaque plante reçoit donc un vase particulier. Les racines doivent plonger dans la solution nutritive et on fera évidemment en sorte que les dépôts de substances nutritives de réserves, albumens ou cotylédons, qui pourraient encore exister, ne soient pas immergés. Il faudra cependant les préserver contre la dessiccation. Les vases de cultures, après qu'on y aura disposé les germinations, seront placés devant une fenêtre où ils recevront la lumière solaire directe. Pour empêcher le développement d'algues dans la solution nutritive et sur les racines des germinations, on colle sur les vases du papier noir brillant. La face blanche de ce papier doit être tournée vers l'extérieur, afin que le liquide ne s'échauffe pas trop considérablement. On peut aussi placer les vases dans des boîtes cylindriques en carton. Quand les plantes ont absorbé à peu près la moitié de la solution nutritive qui se trouvait à l'origine dans les vases, on achève de les remplir avec de l'eau distillée. On ne renouvelle que de temps en temps la solution nutritive tout entière. Il est bon aussi de retirer les plantes de la solution nutritive pendant quelques jours, et de ne donner aux racines,

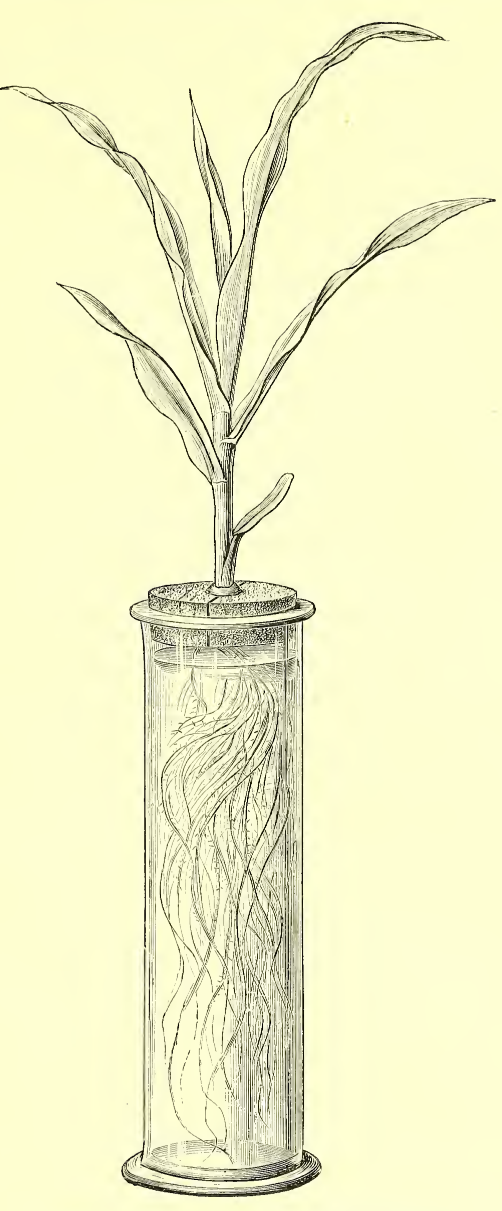


Fig. 1. — Plante de maïs développée à l'aide de la méthode de culture dans l'eau.

pendant ce temps, que de l'eau distillée. Cette précaution aura pour effet d'activer le développement des racines. En procédant avec un peu d'attention et de soin, on acquiert peu à peu l'expérience que nécessitent ces cultures dans l'eau. A l'aide de cette méthode de culture, on est parvenu à obtenir le développement tout à fait normal des plantes en l'absence absolue du sol, et on a pu recueillir, quand la fécondation des fleurs avait eu lieu, un grand nombre de fruits mûrs et de graines susceptibles de germination.

Il n'est d'ailleurs pas du tout nécessaire que nos plantes se développent complètement. Il suffit, pour l'usage auquel nous les destinons, qu'après avoir germé pendant quelques semaines, elles aient produit une tige, une racine et des feuilles vigoureuses. On les retire alors de la solution nutritive, on les dessèche en les étalant à l'air, puis, avec des ciseaux, on les découpe en très petits morceaux et, pour déterminer leur poids en matières sèches, on emploie ou bien un individu tout entier, ou bien une partie de toute la masse recueillie après dessiccation à l'air. Si l'on compare le poids en matières sèches ainsi obtenu avec celui de la graine, on trouve que le premier l'emporte de beaucoup sur le second. Le poids des cendres de la plante que l'on a nourrie est, comme chez la graine, relativement fort restreint. Il résulte donc de l'expérience qu'une quantité considérable de matières organiques a été formée par les matériaux d'étude. Comme nous n'avions point fourni de substances organiques à nos plantes, mais seulement de l'eau, quelques sels et les éléments constituants de l'air, nous avons démontré par nos cultures que les objets soumis à l'expérimentation sont en état de produire des corps organiques aux dépens de la matière purement inorganique.

2. La production, sous l'influence de la lumière, de substances organiques dans la cellule végétale verte.

La production de substances organiques dans la cellule végétale verte est soumise à l'action de la lumière. C'est là un principe de physiologie végétale, de l'exactitude duquel on doit s'assurer par l'expérimentation. Pour cela, on évalue le contenu en matières sèches de quelques grains de maïs pesés isolément. Après le gonflement des grains et leur germination dans la sciure, on dispose chaque plantule, de la manière indiquée dans le paragraphe précédent, dans un vase cylindrique contenant une solution nutritive. Quelques vases de culture sont plongés dans l'obscurité sous une boîte en carton, les autres sont placés, toutes les autres conditions égales d'ailleurs, à l'action alternative du jour et de la nuit. Les feuilles des plantules restées dans l'ombre ne verdissent pas, comme c'est le cas pour celles qui ont été éclairées, mais prennent une coloration jaune; car le pigment chlorophyllien ne peut se former dans les cellules qu'en présence de la lu-

mière. Après quatre ou cinq semaines, on retire les matériaux d'étude des solutions nutritives et on cherche alors à obtenir, après dessiccation à l'air, le poids en matières sèches de chaque plante; ce poids sera comparé avec le poids en matières sèches des graines employées. On verra par là, que le poids en matières sèches des plantules éclairées est considérablement plus élevé que celui des grains de maïs dont on a fait usage, et que le poids en matières sèches des plantes qui ont vécu dans l'obscurité, est devenu, ce dont je me suis assuré, 50 % moindre que celui des graines. Il ne peut donc se former de nouvelles substances organiques en l'absence de lumière; dans ces conditions, au contraire, une grande partie des corps organiques existants est détruite par un phénomène de décomposition (respiration). Sous l'action de la lumière, il y a évidemment aussi décomposition de matières organiques, mais la perte qui en résulte est plus que compensée par l'assimilation, de sorte que les plantes vivant à la lumière peuvent devenir plus riches en matières sèches (1).

3. L'organe de l'assimilation.

Si nous considérons maintenant les conditions qui interviennent pour les plantes supérieures, nous remarquons que la plupart de celles-ci portent des feuilles. On doit considérer les feuilles comme des organes tout spécialement destinés à l'assimilation. Par leur forme aplatie, elles offrent une grande surface à l'air chargé d'anhydride carbonique, et leur tissu vert reçoit une large extension, grâce à l'arrangement particulier des nervures. Celles-ci, de plus, conduisent au mésophylle les quantités d'eau et d'éléments minéraux nécessaires à la vie et aux fonctions des cellules du parenchyme riche en chlorophylle. L'arrangement des nervures dans la feuille peut varier d'une manière extraordinaire d'une plante à l'autre. On pourra cependant en procédant, par exemple, de la manière suivante, se faire une idée générale des phénomènes spéciaux que nous avons à étudier. On porte une feuille d'*Impatiens parviflora* dans l'alcool, jusqu'à extraction de la chlorophylle. Puis, on la place pendant quelque temps dans une solution contenant 5 parties d'hydrate de chloral sur 2 parties d'eau. L'objet sera rendu ainsi extrêmement transparent et on pourra en examiner des fragments d'une façon détaillée sans le secours du microscope. On remarque, dans le mésophylle, la présence de cellules allongées qui contiennent des paquets de raphides (cristaux d'oxalate de chaux). La feuille est traversée par une nervure médiane assez forte, de laquelle partent latéralement les nervures primaires, qui se dirigent vers les bords de la feuille qu'elles longent sur un long trajet avant de s'a-

(1) Voy. Detmer, *Versuchsstationen*, vol. 14, pour les recherches analogues à celles dont il vient d'être question.

nastomoser avec d'autres nervures. Les nervures de premier ordre donnent des nervures de second ordre; ces dernières, des nervures de troisième ordre, etc. De sorte qu'il se forme un lacis compliqué dont une partie des rameaux les plus fins se terminent à faux dans le mésophylle (1).

Pour observer la structure du mésophylle, nous pratiquons ensuite de fines sections transversales, aussi minces que possible, dans certaines feuilles, et nous choisirons, par exemple, comme matériaux, ou bien les cotylédons des germinations de *Raphanus sativus*, plante facile à cultiver en n'importe quelle saison, ou bien des feuilles de *Dahlia variabilis*, de *Vitis vinifera* de *Berberis vulgaris*, de *Syringa vulgaris*, de *Trifolium pratense* ou de *Fagus sylvatica*. On aperçoit immédiatement, à l'examen microscopique de ces sections transversales, que, chez les plantes dont nous nous sommes servi, le mésophylle ne présente pas la même structure du côté de la face inférieure que du côté de la face supérieure (fig. 2). Sous l'épiderme de la face supérieure de la feuille, nous constatons la présence de cellules en forme d'outres, allongées, rectangulaires, que l'on appelle cellules en palissade, alors que, sous la face inférieure de la feuille, un beau parenchyme lacuneux, riche en espaces intercellulaires, s'est développé. Les cellules du parenchyme palissadique comme d'ailleurs aussi celles du parenchyme lacuneux, contiennent des grains de chlorophylle; mais, pour des motifs qui ne pourront être exposés d'une manière détaillée que plus loin, le premier est d'une importance toute particulière pour la production d'une assimilation très énergique. Il en résulte que sa présence à la face supérieure d'un grand nombre de feuilles mérite une attention spéciale.

Certains faits fournis par l'anatomie comparée militent en faveur de l'hypothèse d'après laquelle le parenchyme palissadique doit être considéré comme le tissu spécialement destiné à l'assimilation.

Le *Sarothamnus vulgaris* est un arbrisseau portant des petites feuilles qui ne semblent pas pouvoir suffire au travail de l'assimilation. La tige, fortement ramifiée, doit venir en aide aux feuilles, afin de pourvoir la plante des quantités de matières organiques qui lui sont nécessaires. Une section transversale de la tige offre l'aspect d'une étoile à cinq rayons. En examinant au microscope des sections tranversales minces de cette tige, nous remarquons qu'il existe un tissu sclérenchymateux en dessous de l'épiderme aux extrémités des rayons, et que le tissu des anses, comprises entre les rayons, est vert. On voit clairement que les couches extérieures de ce dernier tissu sont constituées par des cellules en palissade, rectangulaires, allongées perpendiculairement à la surface, et que les cellules chlorophylliennes plus intérieures ont une forme arrondie. Examinons aussi une section transversale mince de la tige

(1) Voy. Sachs, *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie*, 1882, p. 60.

de *Spartium junceum*. Au dessous de l'épiderme, le tissu doué d'activité assimilatrice est constitué tout entier par des cellules en palissade. Il y a environ six couches successives de cellules vertes, longuement étirées, disposées perpendiculairement à la surface. Mais le tissu vert ne forme pas d'anneau fermé sous l'épiderme; il y a alternance, dans toute la région périphérique de la tige, de tissu assimilateur et de sclérenchyme. Chez les plantes possédant peu de feuilles vertes et chez les végétaux qui n'en produisent absolument pas, le tissu vert de la tige doit se charger principalement ou même complètement du travail assimilateur, et ce tissu est alors constitué en majeure partie par des cellules en palissade.

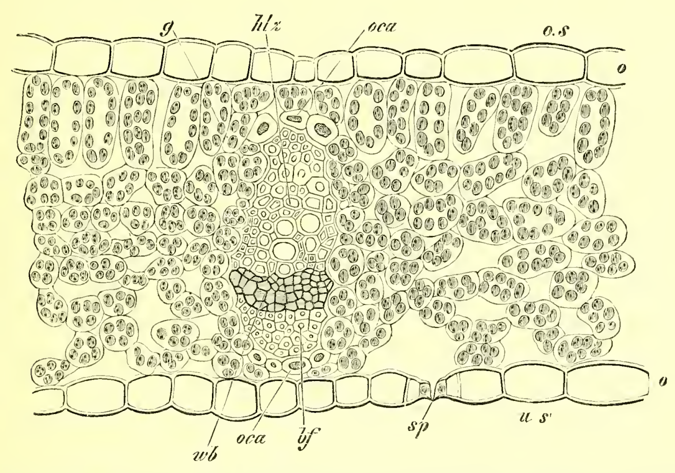


Fig. 2. — Section transversale d'un fragment de feuille de *Trifolium pratense*. *o. s*, face supérieure, *u s*, face inférieure de la feuille; *o*, épiderme; *sp*, stomate; *oca*, cristaux d'oxalate de calcium dans la gaine cristalligène du faisceau libéro-ligneux; *h l z*, bois; *g*, vaisseaux; *w b*, liber mou; *bf*, fibres libériennes (d'après H. de Vries). Gros. 300.

La présence de parenchyme palissadique ne constitue d'ailleurs point un caractère essentiel aux feuilles. Si l'on examine, par exemple, des sections transversales de jeunes feuilles de *Triticum vulgare*, on voit que le mésophylle, limité à la face supérieure et à la face inférieure de la feuille par l'épiderme et parcouru par les faisceaux libéro-ligneux, est exclusivement constitué par des cellules arrondies. Les feuilles chez lesquelles on ne rencontre pas encore de différenciation entre un parenchyme palissadique et un parenchyme lacuneux, sont souvent remarquables par ce fait, que les tissus compris entre les épidermes des deux faces foliaires ne sont pas constitués uniquement par des cellules chlorophylliennes. Examinons, par exemple, une section transversale d'une feuille d'*Iris germanica*. Sous l'épiderme de la face supérieure et de la face inférieure de la feuille, nous trouvons un tissu vert. De plus, on aperçoit nettement des fais-

ceaux libéro-ligneux dont le liber est recouvert extérieurement par un massif de fibres libériennes, et l'on voit que la couche médiane de la feuille est formée par des cellules qui ne sont pas colorées en vert, abondamment pourvues de suc cellulaire. Dans les feuilles de *Hyacinthus orientalis* et dans les feuilles charnues des espèces du genre *Aloës*, on observe également la présence d'un grand nombre de cellules analogues, dépourvues de chlorophylle.

A ces faits intéressants, nous ajouterons que les feuilles à parenchymes palissadique et lacuneux nettement développés offrent, précisément par là même, une symétrie tout à fait dorsiventrale et appartiennent à cette classe d'organes, appelés plagiotropes. Mais toutes les feuilles n'ont pas nécessairement une structure dorsiventrale; il y a aussi beaucoup de plantes dicotylées dont les feuilles ont un mésophylle à structure centrique et qui alors, pour la plupart, montrent un développement plus orthotropique. C'est ainsi, que les feuilles d'*Anchusa italica*, *Centaurea Jacea*, *Tragopogon orientalis*, *Aster Amellus*, *Genista tinctoria*, etc., possèdent une structure centrique. Le mésophylle de la plante citée en avant-dernier lieu, est constitué à peu près totalement par des cellules étirées perpendiculairement aux faces foliaires. Le *Centaurea Jacea* (j'ai eu souvent l'occasion de m'en assurer) varie extraordinairement avec sa station. Les individus fortement exposés au soleil, par exemple, possèdent de longues feuilles étroites et relativement épaisses. Les feuilles des plantes qui ont crû dans l'ombre, se montrent plus minces et plus développées en surface. Le mésophylle des feuilles de *Centaurea Jacea*, surtout celui des plantes éclairées, a une structure centrique et non dorsiventrale. On voit aisément par l'examen microscopique, qu'il existe des cellules en palissade sur la face supérieure ainsi que sur la face inférieure de la feuille (1).

Les pétioles sont en général pauvres en cellules chlorophylliennes, parce qu'ils ne fonctionnent pas, le plus souvent, comme organes assimilateurs des plantes et que d'autres rôles leur sont dévolus. L'étude au microscope d'une section transversale pratiquée dans le pétiole du *Vitis vinifera*, montre qu'il y existe, en dessous de l'épiderme et près de celui-ci, des groupes de faisceaux collenchymateux, et qu'il se rencontre entre ces faisceaux un parenchyme vert peu développé, ainsi que des cellules, parfois nombreuses, parfois en petite quantité, qui contiennent une substance rouge, dissoute dans leur suc cellulaire. L'écorce du pétiole, formée par les différentes sortes de tissus dont nous nous sommes occupé, enveloppe le cercle des faisceaux libéro-ligneux et la moelle. On pourra aussi s'assurer facilement par l'examen d'autres plantes, notamment du *Chenopodium bonus Henricus*, que les pétioles sont pauvres en tissus verts.

Pratiquons une section transversale à travers le pétiole d'un

(1) Voy. Heinricher, in *Pringsheim's Jahrbüchern f. wissensch. Botanik*, vol. 15.

Begonia (j'ai plus spécialement en vue le *Begonia manicata*). Sous l'épiderme, on trouve un anneau de collenchyme, puis on rencontre le tissu fondamental composé de grandes cellules et dans lequel les faisceaux libéro-ligneux ne sont pas disposés en cercle. Les couches périphériques du tissu fondamental à grandes cellules sont, il est vrai, pourvues de chlorophylle, mais chaque cellule ne contient qu'un petit nombre de grains de chlorophylle, relativement gros.

Les tiges vertes des plantes ne participent d'ordinaire, comme les pétioles, que d'une manière très restreinte au travail de l'assimilation et, pour cette raison, la plus grande partie de leurs tissus ne possèdent pas de grains de chlorophylle. Si nous pratiquons, par exemple, une section transversale à travers la tige d'un pavot, nous rencontrons au centre, la moelle. On remarque ensuite la présence, vers l'extérieur, de faisceaux libéro-ligneux qui, outre le bois, comprennent chacun une large zone de liber mou adjacent extérieurement à un massif de fibres libériennes. Les rayons médullaires, entre les faisceaux libéro-ligneux, sont composés de grandes cellules. La présence d'un cylindre parenchymateux fermé, dans l'écorce, est particulièrement caractéristique. Ce cylindre est entouré extérieurement d'une couche peu développée de tissu vert, et cette couche de parenchyme chlorophyllien est limitée immédiatement par l'épiderme. Nous examinerons encore une section transversale de la tige de *Chenopodium bonus Henricus*, où nous observerons sous l'épiderme une alternance de collenchyme et de parenchyme vert (1).

4. La pénétration de la lumière dans les tissus végétaux.

La lumière est d'une grande importance pour la production de phénomènes physiologiques très différents, et les rayons lumineux d'inégale réfrangibilité ne peuvent, en aucune façon, être considérés comme possédant la même valeur quant à l'influence qu'ils exercent sur la vie végétale. On voit, par là, qu'il ne sera pas sans intérêt d'instituer quelques expériences sur les phénomènes qui accompagnent la pénétration de la lumière à travers les tissus végétaux. La profondeur à laquelle les rayons lumineux peuvent pénétrer dans les tissus végétaux dépend : d'une part, de leur intensité et de leur réfrangibilité; d'autre part, des propriétés chimiques des éléments constituants des cellules elles-mêmes, et des particularités anatomiques des tissus. Remarquons, par rapport à ce dernier point, que la présence d'un système intercellulaire plus ou moins développé joue un rôle important. S'il existe, par exemple, de nombreux espaces intercellulaires, les rayons incidents devront très fréquemment passer des liquides cellulaires et des mem-

(1) Littérature du tissu assimilateur : Pick, *Beiträge zur Kenntniss des assimilirenden Gewebes armlaubiger Pflanzen*, Bonn, 1881; G. Haberlandt, *Pringsheim's Jahrbücher für wissensch. Botanik*, vol. 3; Stahl, *Botan. Zeitung*, 1880.

branes cellulaires imbibées d'eau, dans l'air ; ce qui doit naturellement diminuer d'une manière considérable le degré de transparence d'un tissu. On démontre clairement l'importance que possède l'existence des espaces intercellulaires pour les phénomènes qui nous occupent, en faisant l'expérience suivante. Un fragment de feuille de *Begonia manicata* est plongé dans l'eau contenue dans un petit vase. On ferme l'ouverture du vase au moyen d'un bouchon en caoutchouc percé d'un orifice, dans lequel on a introduit une des branches d'un tube courbé à angle droit, et on met l'autre branche en communication avec une pompe à air. Quand on fait fonctionner la pompe, l'air s'échappe des espaces intercellulaires du morceau de feuille, et ceux-ci se remplissent d'eau ; l'objet qui sert à l'expérimentation se montre plus transparent qu'au début. Quand on plonge le sommet d'une feuille de *Primula sinensis* dans l'eau et que l'on porte à la bouche le bout inférieur du pétiole, pour chasser l'air des espaces intercellulaires par aspiration, l'eau pénètre dans ces espaces intercellulaires par les stomates ; ce qui rend la feuille légèrement plus transparente.

Le tissu subéreux, par suite de la nature propre de ses membranes cellulaires, ne possède qu'un degré minime de transparence. Il en est de même des tissus riches en chlorophylle, qui, par suite de la présence du pigment vert, absorbent beaucoup de lumière et n'en laissent passer qu'une quantité relativement petite. Il y a lieu ici de mentionner également, bien que nous revenions plus spécialement au § 7 sur le pouvoir d'absorption de la couleur verte des feuilles pour les rayons lumineux, que le pigment chlorophyllien possède un pouvoir absorbant très énergique pour les rayons lumineux que l'on a appelés rayons chimiques. On peut facilement s'en assurer en plaçant une feuille quelconque sur un morceau de papier photographique, que l'on expose ensuite entre deux lames de verre à l'influence de la lumière. La portion du papier qui n'est pas recouverte par la feuille, se colore rapidement en brun ; la couleur blanche ne se modifie point ou peu sensiblement dans la partie recouverte, parce que la chlorophylle des tissus foliaires absorbe très énergiquement les rayons dits chimiques.

Pour déterminer la profondeur à laquelle une lumière d'une intensité encore appréciable à l'œil, peut pénétrer dans les couches histologiques, on fait usage, depuis Sachs (1), du diaphanoscope simple (fig. 3). Cet instrument consiste en un tube de carton épais *a*, de 60 millimètres de longueur et de 35 millimètres de diamètre, dont une extrémité est ouverte et dont l'autre, fermée, ne possède qu'un orifice de 10 millimètres de diamètre. Cette extrémité du tube *a* est introduite dans un second tube en carton qui a la même disposition que le précédent. On peut étudier le pouvoir de pénétration de la lumière dans les tissus végétaux, en intercalant l'objet à examiner entre les deux tubes et en

(1) Voy. Sachs, *Sitzungsber. d. Akadem. d. Wiss.* zu Wien, 1860, vol. 43.

tenant l'extrémité ouverte du tube *a* étroitement appliquée contre l'œil, tout en dirigeant l'instrument vers le soleil ou un nuage blanc. En introduisant un morceau de feuille de *Lonicera tartarica* dans le diaphanoscope, la lumière qui le traverse se montre vert-clair. Si on en introduit quatre, on voit nettement que la lumière verte les traverse encore; mais si on en a placé 6, l'œil ne perçoit une apparence verte qu'après avoir regardé pendant quelque temps.

Pour obtenir un diaphanoscope analyseur, on n'emploie le diaphanoscope simple que pour le glisser sur la partie antérieure d'un spectroscope approprié, que l'on dirige vers le ciel bleu ou des nuages clairs. Dès que j'avais introduit dans le diaphanoscope un fragment de feuille de *Syringa vulgaris*, j'observais qu'elle laissait passer le rouge, l'orangé, le jaune et un peu de vert. Ces couleurs sont, il est vrai, légèrement affaiblies, mais les rayons plus réfrangibles sont complètement absorbés. Deux morceaux de feuille de *Syringa* laissent encore passer du rouge, de l'orangé, du jaune et du vert très affaiblis, mais pas les autres rayons. Une tranche de 17 millimètres d'épaisseur d'un tubercule de pomme de terre, que j'avais introduite dans le diaphanoscope, absorbait complètement les rayons les plus réfrangibles et se laissait traverser par le rouge, l'orangé, le jaune, le vert, très affaiblis, et une trace de bleu. Il résulte de ces observations, que les rayons lumineux peu réfrangibles pénètrent plus profondément dans les tissus végétaux que les rayons fort réfrangibles.

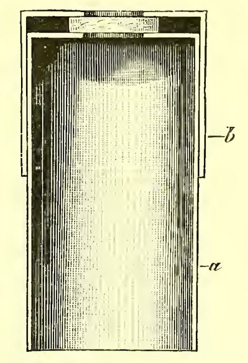


Fig. 3. — Diaphanoscope, en section longitudinale.

5. Les corps chlorophylliens.

On doit considérer les corps chlorophylliens comme constituant l'organe de l'assimilation. Leur forme est généralement arrondie ou polyédrique. Ce n'est que dans les cellules de certaines algues que l'on rencontre des corps chlorophylliens présentant une autre forme. Nous porterons, par exemple, quelques filaments d'une algue qui s'observe fréquemment dans les eaux stagnantes, un *Zignema*, sur un porte-objet avec une goutte d'eau. Nous recouvrons avec une lamelle et nous examinons à un grossissement d'environ 500 fois. On remarque alors que chaque filament est constitué par une rangée de cellules, et qu'il existe dans chaque cellule deux corps étoilés colorés en vert. Ce sont les corps chlorophylliens. Au milieu de chaque cellule, on aperçoit de plus le noyau cellulaire. Mais celui-ci ainsi que le protoplasma pariétal avec lequel les corps chlorophylliens sont en relation par leurs rayons ne nous intéressent pas autrement.

Les spirogyres sont des algues qui proviennent, en majeure partie,

des eaux stagnantes, et qui sont constituées par des filaments cellulaires non ramifiés. Examinées au microscope, elles montrent dans chaque cellule des bandes spiralées vertes qui représentent les corps chlorophylliens, et dont le nombre varie avec les différentes espèces. Le protoplasma pariétal et le noyau, étiré au milieu des minces filaments plasmiques qui se montrent dans le suc cellulaire, sont souvent faciles à observer.

Quand on est parvenu à se procurer un bon matériel en fait de spirogyres, algues qui nous sont nécessaires pour instituer diverses expériences de physiologie, on cherche à les cultiver. C'est, d'après Strasburger, en portant les algues dans des vases peu profonds remplis d'eau potable, à parois opaques ou rendues opaques en les recouvrant avec du papier noir, qu'on y réussit le mieux. On expose ensuite les algues à une vive lumière diffuse (et non à la lumière directe du soleil), et on jette de temps en temps dans l'eau des morceaux de tourbe imprégnée de matières nutritives extraites, à la suite d'une cuisson, d'une solution nutritive ordinaire, comme on en emploie dans la méthode de culture dans l'eau.

Dans les eaux stagnantes et dans les eaux courantes, se trouvent très fréquemment diverses espèces du genre *Cladophora* à filaments rudes au toucher. Des rameaux latéraux s'échappent de la partie supérieure des cellules articulées qui les constituent. En examinant ces algues à un grossissement considérable, on remarque que la couche pariétale verte des cellules est formée par de petits corps polygonaux séparés les uns des autres par de minces lignes incolores. Les corps chlorophylliens des *Cladophora* sont déjà assez semblables à ceux des plantes supérieures.

Il est permis de mentionner également ici un organisme remarquable qui se rencontre souvent attaché aux plantes plongées dans les réservoirs. Je veux parler de l'hydre verte, animalcule de 5 à 12 millimètres de longueur et de couleur verte. Lorsque nous portons l'hydre dans une goutte d'eau et que nous l'examinons au microscope, sans faire usage de verre couvreur pour ne point la détériorer, nous observons qu'elle présente la forme d'un sac pourvu antérieurement d'une ouverture entourée d'un grand nombre de tentacules. Ce sac formé, par deux membranes, l'ectoderme et l'endoderme, peut se contracter et se dilater. Dans l'endoderme de la partie cylindrique et des tentacules de l'hydre, on observe la présence de nombreux corps verts arrondis. Ce sont des algues monocellulaires qui sont en relation symbiotique avec l'hydre. Celle-ci les prend sous sa protection, et les algues rendent service à l'hydre en lui procurant, en vertu de leur pouvoir assimilateur, des substances organiques ainsi que de l'oxygène libre.

Dans les serres où l'on cultive des fougères, on trouve, d'ordinaire facilement, sur les murs humides ou sur les troncs de fougères arborescentes, des prothalles de fougères, petits corps verts, cordiformes, atta-

chés à un substratum que l'on écarte à l'aide d'une fine pince. Après les avoir lavés, nous les examinons au microscope dans une goutte d'eau. Les prothalles sont formés d'une rangée unique de cellules jusqu'à leur région médiane. Ils présentent une petite découpure à leur extrémité antérieure, et portent des poils radicaux assez longs à leur face inférieure ou ventrale. Ce qu'il importe pour nous de constater, c'est la présence de nombreux corps chlorophylliens arrondis dans les cellules prothaliennes vertes.

Il sera intéressant aussi d'examiner au microscope la feuille d'une mousse très répandue, le *Funaria hygrometrica*. Nous choisirons, pour des raisons que nous ne pouvons indiquer ici, des plantes qui ont été exposées pendant quelque temps à la lumière solaire diffuse. Les cellules foliaires disposées, jusqu'à la nervure médiane, sur une seule rangée, contiennent un grand nombre de volumineux grains de chlorophylle dont une partie sont en voie de division.

Nous pratiquerons ensuite une section transversale à travers le thalle du *Marchantia polymorpha*, hépatique ramifiée dichotomiquement qui croît très fréquemment sur le sol humide. Sans entrer dans d'autres détails, qu'il nous suffise de constater la présence d'un tissu riche en chlorophylle à la partie supérieure du thalle. Il est suivi d'une couche moyenne pauvre en chlorophylle. A la partie ventrale, on retrouve de nouveau deux couches cellulaires riches en chlorophylle.

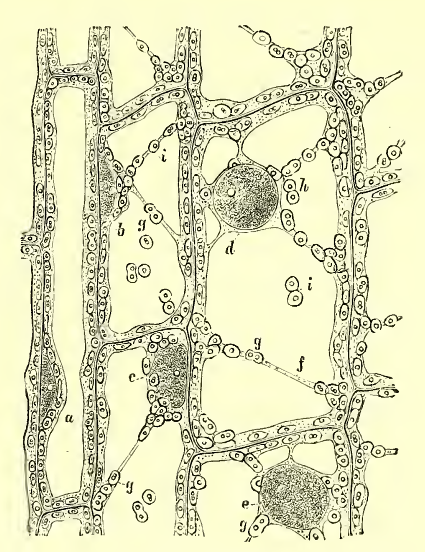


Fig. 4. — Quelques cellules de la feuille d'*Elodea canadensis*. *a* — *e*, noyaux cellulaires; *f*, filaments protoplasmiques; *g*, grains de chlorophylle renfermant des granules amylacés et dont une partie sont en voie de division (d'après Kny).

Si l'on dépose sur un porte-objet, dans une goutte d'eau, une feuille provenant d'un bourgeon d'*Elodea canadensis*, on pourra, après quelques recherches, rencontrer des cellules présentant les particularités mises en évidence dans la fig. 4. On observera facilement le plasma pariétal, la couche protoplasmique périnucléaire ainsi que les filaments protoplasmiques. Le protoplasme se montre souvent animé d'un mouvement rapide. Les corps chlorophylliens se distinguent très nettement du plasma.

Si on écarte les assises cellulaires extérieures de la face inférieure d'une feuille d'*Escheverria*, et que l'on étudie des coupes du tissu lacuneux sous-jacent, on remarque la présence, dans les cellules qui n'ont pas été froissées, de volumineux corps chlorophylliens. Ceux-ci sont

particulièrement intéressants. Ils laissent apercevoir leur structure réticulée d'une manière relativement nette, lorsqu'on les observe sous un grossissement assez considérable. On peut admettre que tous les corps chlorophylliens, possèdent une structure analogue, mais que celle-ci n'est pas toujours aisée à découvrir.

On fait germer des graines de lupin à la lumière. Les cotylédons qui se montrent bientôt à la surface du sol, prennent une coloration verte. L'examen microscopique de la section transversale d'un cotylédon décèle facilement l'existence d'un épiderme, d'un tissu fondamental et de faisceaux libéro-ligneux. On voit des grains de chlorophylle assez volumineux dans les cellules du tissu fondamental, surtout à la périphérie.

Il importe de constater que divers organes végétaux, bien que ne présentant point la coloration verte de la chlorophylle, contiennent cependant des quantités plus ou moins grandes de cette matière colorante et sont par conséquent capables d'assimiler. Nous pratiquons des sections transversales à travers des feuilles de variétés à feuilles rouges de *Corylus* ou de *Fagus*. Dans les cellules du parenchyme palissadique et du parenchyme lacuneux, il existe, comme dans les feuilles vertes, de nombreux grains de chlorophylle. Mais les cellules épidermiques contiennent un suc cellulaire coloré en rouge ou en violet; les pigments qui se trouvent dans l'épiderme masquent donc la couleur verte foliaire. Les jeunes feuilles de certaines plantes (de chêne, par exemple) ne sont point vertes, mais rouges. Plus tard seulement, les feuilles verdissent. Le mésophylle des jeunes feuilles contient, comme on peut s'en assurer par l'étude de sections transversales, outre de nombreux grains de chlorophylle, une substance colorante rouge dissoute dans les cellules en palissade. Dans le cas particulier qui nous occupe, la matière colorante rouge sert à préserver les cellules vertes situées plus profondément contre une lumière trop intense.

Le *Neottia Nidus avis* est une plante qui appartient à la famille des orchidées et que l'on rencontre communément sur le sol riche en humus des bois humides. La plante tout entière possède une coloration brune; elle semble être dépourvue de chlorophylle. Une section transversale de la tige, pratiquée dans une région d'environ 6 centimètres en dessous de l'inflorescence, laisse apercevoir à l'examen microscopique : l'épiderme, les parenchymes cortical et médullaire, séparés l'un de l'autre par un cylindre sclérenchymateux, et les faisceaux libéro-ligneux. Nous ne trouvons nulle part des grains de chlorophylle. Si on verse de l'alcool sur un *Neottia* après l'avoir écrasé, on obtient un extrait d'un vert chlorophyllien, qui offre la même fluorescence qu'une solution de chlorophylle fournie par des feuilles vertes. Le *Neottia* possède de fait de la chlorophylle, comme Wiesner, le premier, a pu le démontrer. Cette plante peut donc assimiler et produire, elle-même, aux dépens de la matière inorganique, une partie de la

substance organique qui lui est nécessaire, mais elle peut aussi s'en procurer ailleurs. Nous enlèverons ensuite un fragment d'épiderme que nous examinerons à un fort grossissement. Dans le voisinage du noyau des cellules, nous trouverons des corpuscules arrondis ou fusiformes, colorés en brun, qui verdissent lorsqu'on traite la préparation par l'alcool. Des corpuscules analogues se trouvent également, mais cependant en quantité moindre, dans les tissus de la tige. Ces corpuscules contiennent, à côté de la chlorophylle, une matière colorante brune qui la cache complètement dans les conditions ordinaires.

Chez les algues brunes appartenant au genre *Fucus*, la chlorophylle est masquée également par la présence d'une matière colorante brune. Voici comment j'ai pu m'en assurer. J'avais recueilli, dans les environs de Cuxhaven, une certaine quantité de *Fucus vesiculosus* qui furent soigneusement emballés de manière à leur conserver leur fraîcheur. Quelques jours après, je pus entreprendre mes expériences. Les parties les plus jeunes de mes algues furent découpées et bouillies pendant quelque temps dans l'eau. Après avoir été débarrassés du jus brun provenant de la cuisson, les tissus de la plante montrèrent une coloration verte. J'ai arrosé alors les plantes avec de l'eau froide et je les ai placées dans l'alcool qui prit aussitôt une couleur jaune-verdâtre. Cette dernière coloration fut enlevée et décomposée par l'addition d'une nouvelle quantité d'alcool, qui me procura une solution chlorophyllienne d'un vert magnifique, fortement fluorescente (1).

On traite par l'alcool des feuilles provenant d'un bourgeon d'*Elodea*, des feuilles de *Funaria hygrometrica* ou des prothalles de fougères (ces deux derniers genres de matériaux d'étude sont plus particulièrement recommandables). Ces organes végétaux se décolorent et laissent apercevoir au microscope la masse fondamentale protoplasmique des corps chlorophylliens débarrassés de leur matière colorante. On verra très distinctement les corpuscules chlorophylliens qui ont été décolorés, en déposant sur les préparations une goutte d'une solution aqueuse très étendue de violet de méthyle.

6. La chlorophylle.

Dans ces derniers temps, de nombreuses recherches ont été effectuées, surtout par Sachsse, Hansen et Tschirch, pour isoler de la chlorophylle pure des organes verts des plantes. Elles ont confirmé les résultats fournis par les expériences, assez anciennes déjà, instituées par G. Kraus (2), qui parvint à démontrer que la chlorophylle est un mélange de deux matières colorantes : l'une, d'un bleu-verdâtre, la cya-

(1) Voy. Hansen, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. 2, p. 289.
(2) G. Kraus, *Zur Kenntniss der chlorophyllfarbstoffe*, Stuttgart, 1872.

nophylle; l'autre, jaune, la xanthophylle. Nous ne pouvons relater en détail les travaux récents, d'abord parce que leurs résultats offrent encore actuellement plus d'intérêt pour la phytochimie que pour la physiologie végétale, et ensuite parce que les méthodes employées pour obtenir de la chlorophylle dans un état de pureté plus ou moins grand, sont d'une nature très compliquée et demandent de longues manipulations. Par contre, les recherches de G. Kraus méritent que nous nous y arrêtions.

On peut se procurer des solutions de chlorophylle brute, comme nous les appellerons, au moyen d'organes végétaux verts quelconques. Cependant, pour obtenir un extrait chlorophyllien relativement pur, on choisira de préférence des jeunes plantes de froment ou d'*Elodea*. On découpe la partie aérienne de jeunes plantes de froment qui ont formé, ou à peu près, leur sixième feuille, ou bien on recueille une quantité convenable d'*Elodeas* à l'état frais. On place ces matériaux d'étude dans une capsule en porcelaine avec de l'eau distillée et on fait bouillir pendant quelque temps (1/4-1/2 heure) au bain-marie. Après avoir enlevé le jus produit par la cuisson, on lave les plantes avec de l'eau et on les porte dans un grand récipient contenant de l'alcool fort. L'extraction de la chlorophylle s'effectue assez rapidement, surtout lorsqu'on a soin de chauffer légèrement. Il est absolument nécessaire de faire cette opération dans l'obscurité, car la chorophylle, comme nous le verrons plus loin, se décompose facilement sous l'influence de la lumière. La solution chlorophyllienne ainsi obtenue possède une magnifique coloration verte.

La chlorophylle qui, dans les cellules végétales, se montre unie à une masse protoplasmique fondamentale, ne peut être considérée en aucun cas comme une individualité chimique. C'est un mélange de deux matières colorantes : l'une, la cyanophylle, bleue; l'autre, jaune, la xanthophylle. On peut s'en assurer par l'expérience suivante :

Une solution alcoolique de chlorophylle est versée dans un vase cylindrique en verre. On ajoute ensuite un peu d'eau à cette solution, mais de manière à n'y produire aucun trouble. Après l'avoir mélangé avec du benzol, on secoue vivement puis on laisse reposer le liquide. Le mélange se sépare bientôt en deux couches. L'une, à la partie inférieure du vase, est formée par une solution alcoolique jaune d'or de xanthophylle; l'autre, par une solution bleue de cyanophylle dans le benzol. La substance colorante jaune est plus soluble dans l'alcool que dans le benzol, tandis que la matière colorante bleue se dissout mieux dans le benzol que dans l'alcool. De là, provient la séparation des éléments constituants du mélange.

Dans les cellules des organes jaunes des plantes qui se sont développées dans l'obscurité, on constate la présence de quantités considérables de grains d'étioline (voy. § 10). Ceux-ci sont constitués par une masse fondamentale protoplasmique et une substance colorante jaune

que l'on peut isoler par extraction, au moyen de l'alcool, par exemple, des plantules étiolées de froment ou d'orge dont la croissance s'est faite en l'absence de la lumière. Cet extrait possède une belle couleur jaune. On peut obtenir des matériaux d'étude convenables en déposant sur de la sciure humide des grains de froment ou d'orge, déjà gonflés, et en cultivant pendant huit jours à l'obscurité les germinations qui en proviennent.

7. Le spectre d'absorption et la fluorescence de la chlorophylle.

Pour l'étude spectroscopique de la chlorophylle, on peut faire usage de différents instruments. Il suffit, dans beaucoup de cas, d'employer le spectroscope de Bunsen. Mais je sais par expérience personnelle qu'il est beaucoup plus aisé, pour diverses raisons, de travailler avec un spectroscope de précision. Le maniement de cet appareil ne présente aucune difficulté. Il suffit de le diriger vers un mur blanc ou une fenêtre protégée contre l'action directe du soleil, pour obtenir de beaux spectres. Les petits spectroscopes de poche, fabriqués actuellement d'une manière supérieure en Allemagne, sont tout à fait suffisants pour beaucoup d'expériences de physiologie. Il est souvent précieux d'effectuer certaines recherches à l'aide d'un microspectroscope qui s'adapte au microscope. Zeiss, de Iéna, fournit un instrument de ce genre d'excellente qualité, construit d'après les indications de Abbe, avec micromètre et prisme de comparaison (1).

Dans les expériences où il est nécessaire de déterminer exactement la position des bandes d'absorption de la chlorophylle, on emploiera des appareils dont les échelles possèdent une division en rapport avec les longueurs d'ondes, et non point une division quelconque. On peut d'ailleurs obtenir d'une manière très simple des échelles exactes, en les graduant au moyen des lignes de Frauenhofer.

Les solutions de chlorophylle qui doivent servir aux essais microspectroscopiques, sont versées dans de petits vases en verre, à fond plat, que l'on dispose sur la platine du microscope. S'il s'agit d'étudier au microspectroscope, les spectres d'absorption des corps chlorophylliens d'algues, de feuilles de mousses ou de sections pratiquées dans des plantes supérieures, il suffira, après avoir placé les matériaux d'étude sur un porte-objet avec de l'eau ou de la glycérine, de les recouvrir au moyen d'une lamelle. On pourra même expérimenter avec des feuilles tout entières.

Soit que l'on travaille avec le spectroscope de Bunsen, avec des appareils de précision ou avec des spectroscopes de poche, on aura

(1) On trouvera des indications exactes, accompagnées de figures, sur la marche à suivre pour effectuer des recherches spectroscopiques, dans le *Lehrbuch der angewandten Optik* de GÄNGE, Brunswick, 1886, et dans le *Lehrbuch der Physik und Meteorologie* de MÜLLER, 8e édition, Pfaundler, vol. 2, p. 206.

toujours soin de mettre les solutions chlorophylliennes dans des vases spéciaux à parois planes, parallèles, ou bien tout simplement dans des tubes à réactions, et ensuite de les placer tout à fait contre la fente. Il y a avantage à disposer les tubes à réactions dans un support comme celui que représente la fig. 5 et qui est dû à Gänge (voy. le *Lehrbuch der angewandten Optik* de cet auteur, p. 119).

Un bloc de bois dur et poli (*a b*), de 40 millimètres de hauteur et de 30 millimètres de largeur, est pourvu, de 10 en 10 millimètres, d'orifices verticaux de 30 millimètres de profondeur et de 16 millimètres de diamètre. Il sert de support pour des tubes à réactions de 15 millimètres de diamètre. Les orifices verticaux sont rencontrés, à 15 millimètres en dessous de la surface supérieure du bloc, par des ouvertures de 10 millimètres de diamètre creusées horizontalement, qui percent le bloc d'outre en outre et permettent à la lumière (lumière naturelle ou lumière fournie par une lampe à pétrole) de traverser les solutions chlorophylliennes contenues dans les tubes d'essais. Ces divers orifices sont noircis avec de l'encre pour éviter autant que possible les réflexions de lumière. A la face inférieure du bloc de bois, on a pratiqué une glissière qui peut recevoir une pièce de laiton appropriée. Celle-ci est placée à angle droit sur une tige ajustée dans un support à pied. Pour observer pendant le même laps de temps les spectres d'absorption de liquides différents (ceux fournis, par exemple, par une solution normale de chlorophylle et une solution chlorophyllienne décomposée), on emploiera avantageusement le procédé décrit et figuré par Gänge à la page 120 du livre indiqué plus haut.

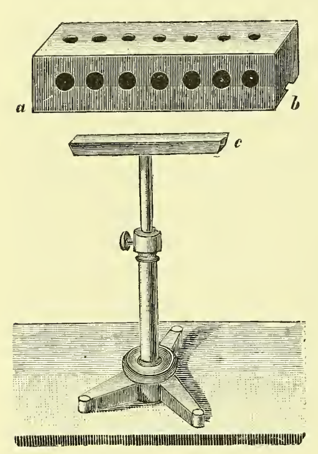


Fig. 5. — Support pour les tubes à réactions renfermant les liquides dont on cherche à obtenir le spectre d'absorption.

La littérature concernant le spectre d'absorption de la chlorophylle est extraordinairement étendue (1). Il ne peut être question de rapporter ici d'une manière détaillée les controverses soulevées et qui ne sont pas encore terminées aujourd'hui. Je n'aurai d'autre but que de faire connaître au lecteur les propriétés optiques d'une solution alcoolique de chlorophylle. Celle-ci possède un spectre d'absorption bien caractéristique. La place me manque pour mentionner d'une façon complète la littérature scientifique concernant les spectres d'absorption de préparations chlorophylliennes différentes. Le lecteur devra donc

(1) Voy. Kraus, *Zur Kenntniss der Chlorophyllfarbstoffe*, 1872; Pringsheim, *Monatsber. d. Berliner Akademie*, 1874 et 1875, et *Sitzungsber. d. Berliner Akademie* 1886; Hansen, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. 3, Cah. 1; Tschirch, *Berichte d. Deutschen botan. Gesellschaft*, vol. 1.

puiser dans les travaux originaux, que nous avons cités, les méthodes propres à chaque espèce de préparation.

Pour obtenir une solution alcoolique relativement pure de chlorophylle, on emploiera la méthode déjà indiquée dans le § 6. Après cuisson dans l'eau de jeunes feuilles de froment ou d'*Elodea canadensis*, on se débarrasse de l'extrait aqueux obtenu, on lave à l'eau et, finalement, on plonge les matériaux d'étude dans l'alcool. Cette solution alcoolique de chlorophylle doit être préparée dans l'obscurité. On l'étudiera immédiatement à l'aide du spectroscope. Le spectre d'absorption d'une

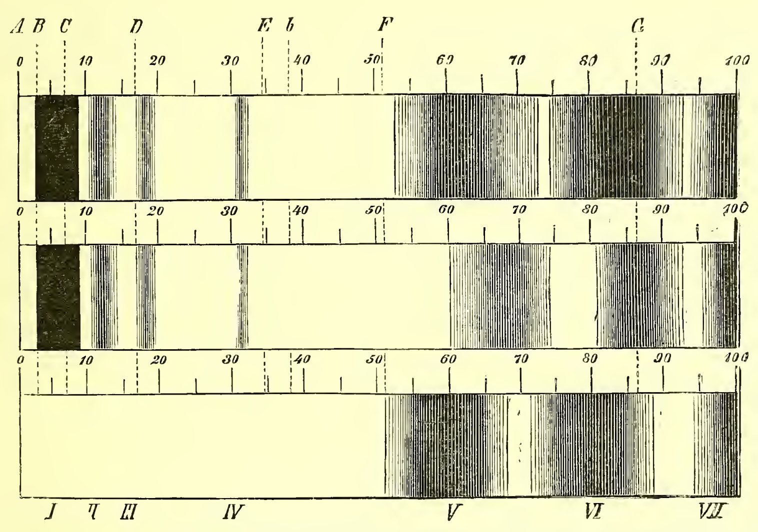


Fig. 6. — Spectres d'absorption de la chlorophylle, d'après Kraus. Le spectre d'en haut est obtenu avec l'extrait alcoolique des feuilles; celui du milieu avec la matière colorante bleu-verdâtre; celui d'en bas avec la matière colorante jaune. Les bandes d'absorption sont figurées, dans la partie la moins réfrangible B-E telles que les donne une dissolution concentrée, et dans la partie la plus réfrangible F-H telles que les donne une dissolution diluée. Les lettres A-G indiquent la position des raies de Frauenhofer; les nombres I-VII désignent les bandes d'absorption de la chlorophylle, numérotées par Kraus du rouge au violet; les traits 0-100 divisent la longueur du spectre en 100 parties égales.

pareille solution est représenté par la fig. 6. Il montre 7 raies d'absorption, dont 6 qui lui sont propres. Lorsque la solution dont on a fait usage n'est pas trop étendue, les trois bandes qui se trouvent dans la moitié la plus réfrangible du spectre ne sont pas séparées les unes des autres; elles se fondent en une bande unique. Les quatre bandes situées dans la moitié la moins réfrangible sont encore faciles à reconnaître avec une solution de concentration moyenne. La première de ces bandes, placée dans le rouge entre les lignes B et C de Frauenhofer, est très caractéristique. Les solutions même très étendues montrent nettement cette première raie d'absorption. Pour observer le spectre des feuilles vivantes, on procède de la manière indiquée par G. Kraus, à la page 47 de l'ouvrage que nous avons mentionné. En

étudiant au moyen du microspectroscope, les spectres d'absorption d'organes végétaux très minces, des feuilles de mousses, par exemple, des prothalles de fougères, des algues (j'ai pu expérimenter avec des filaments de *Cladophora*), on ne peut guère apercevoir que la première bande, dans le rouge. Il se produit une absorption complète et continue dans la partie la plus réfrangible du spectre, qui provient de la fusion des bandes V, VI et VII. On ne peut donc voir les bandes II, III et IV.

On a montré dans le § 6 que la chlorophylle normale représentait un mélange de deux matières colorantes : la xanthophylle et la cyanophylle. On a aussi indiqué la méthode à suivre pour séparer, l'une de l'autre, ces deux matières colorantes. La solution de xanthophylle (au moins, quand elle est étendue) ne montre à l'examen spectroscopique que trois raies d'absorption, localisées dans le bleu et le violet. La solution bleu-verdâtre de cyanophylle possède 7 raies d'absorption : I, dans le rouge; II, dans l'orangé; III, dans le jaune; IV, dans le vert; V, VI et VII, dans le bleu et le violet.

Une solution alcoolique concentrée de chlorophylle regardée par réflexion, possède une couleur rouge. Cette coloration s'accentue et devient plus belle lorsqu'on projette, à l'aide d'une lentille biconvexe, un rayon de soleil à la surface libre de la solution. La chlorophylle est fluorescente sous l'action de la lumière rouge, comme il est facile de le montrer.

8. La décomposition de la chlorophylle.

On place dans un endroit obscur, dans une armoire, par exemple, de vigoureux exemplaires de *Tropaeolum majus*, cultivés en pots. Après huit jours, si la température n'est pas trop basse, les feuilles auront subi un changement de coloration. Les plus âgées montrent, bien qu'elles soient encore succulentes, une coloration jaune; les jeunes sont panachées, et les plus jeunes, encore complètement vertes. La quantité de lumière reçue exerce une grande influence sur les grains de chlorophylle, comme nous l'apprend l'étude au miscroscope de sections minces du mésophylle des feuilles jaunies de *Tropaeolum*. La dimension des grains a diminué et la matière colorante verte a été remplacée par une jaune (1). Des filaments de *Spirogyra* ont été placés dans des vases contenant une petite quantité d'eau et maintenus longtemps dans l'obscurité (dans mes expériences, pendant 5 à 8 jours et à une température de 15-20°C). Leurs corps chlorophylliens avaient considérablement changé. Dans certaines cellules, il existait encore des rubans spiralés verts; dans d'autres, au contraire, par suite de la décomposition des corps chlorophylliens, il s'était formé

(1) Voy. Sachs, *Botanische Zeitung,* 1864, p. 38.

des boules irrégulières en même temps qu'il s'était opéré un changement de coloration.

Traitée par les acides, la chlorophylle subit des modifications beaucoup plus profondes encore. On plonge des filaments de *Spirogyra* ou de *Zignema* (cette algue m'a donné des résultats particulièrement favorables) dans un liquide produit en mélangeant une partie d'acide chlorhydrique avec 4 parties d'eau. La chlorophylle change de coloration et après un laps de temps assez grand (parfois seulement après 20 heures), il se forme dans les corps chlorophylliens, surtout marginalement, des masses brunâtres ou brun de rouille qui sont des produits de décomposition dûs à l'action de l'acide chlorhydrique (réaction de l'hypochlorine) (1).

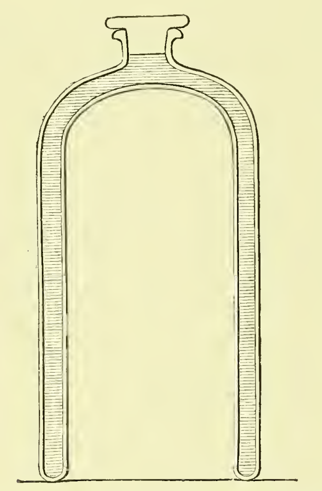
Une dissolution de chlorophylle brute (préparée en traitant par l'alcool des organes verts de plantes) est de même fortement altérée par l'addition d'un acide. En ajoutant une très petite quantité d'acide nitrique ou d'acide chlorhydrique à une solution de ce genre, sa belle coloration verte disparaît immédiatement pour faire place à une couleur brune.

La solution alcoolique de chlorophylle brute contient, à côté du pigment chlorophyllien, toute une série d'autres substances. On peut néanmoins en faire usage, pour démontrer que la chlorophylle est excessivement sensible à l'action de la lumière. Dans l'obscurité, une solution de chlorophylle peut se conserver longtemps sans éprouver d'altération; sa coloration ne change alors que graduellement. La lumière diffuse n'agit pas très vivement sur une solution de chlorophylle brute, mais la lumière directe du soleil la modifie très rapidement. Sous l'influence de la lumière solaire directe, une telle dissolution est entièrement décolorée au bout d'une demi-heure. Il est également très intéressant d'étudier l'influence des lumières de diverses réfrangibilités sur les dissolutions de chlorophylle brute. Nous devons ici, pour la première fois, nous occuper d'expériences de physiologie végétale dans lesquelles on fait intervenir l'action de lumières de diverses réfrangibilités. Il nous faudra donc décrire d'une manière détaillée les méthodes employées. Elles nous serviront aussi plus tard pour d'autres recherches.

Une solution aqueuse, à peu près concentrée, de bichromate de potassium laisse passer, presque sans altération et en couches qui ne sont pas trop épaisses, les rayons rouges, orangés, jaunes et une partie des rayons verts. Cette solution absorbe toute la partie la plus réfrangible du spectre. Une dissolution d'oxyde de cuivre dans l'ammoniaque (qui s'obtient en dissolvant du sulfate de cuivre dans l'ammoniaque), absorbe, au contraire, les rayons qui traversent la dissolution de bichromate de potassium, mais n'entrave pas le passage des autres

(1) Voy. Pringsheim, *Jahrbücher für wissensch. Botanik*, vol. 12.

rayons, c'est-à-dire une partie des rayons verts, les rayons bleus, indigo et violets. Au moyen de ces deux dissolutions, on pourra donc décomposer exactement la lumière blanche en sa moitié la moins réfrangible et en sa moitié la plus réfrangible. Pour recevoir ces dissolutions, on emploie très généralement des cloches en verre à double paroi (fig. 7). L'espace compris entre les deux parois de la cloche, et par conséquent aussi l'épaisseur du liquide coloré, est d'ordinaire d'environ un centimètre. On dispose les cloches sur des terrines remplies de sable, afin d'empêcher la pénétration de la lumière blanche sous les cloches. Les matériaux d'étude placés sous les cloches ne reçoivent plus alors que les rayons les moins réfrangibles ou les rayons les plus



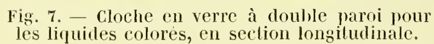


Fig. 7. — Cloche en verre à double paroi pour les liquides colorés, en section longitudinale.

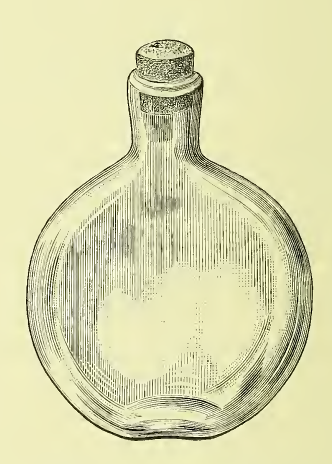


Fig. 8. — Flacon en verre à parois parallèles pour les liquides colorés.

réfrangibles. J'ai employé fréquemment aussi, pour les expériences concernant l'influence exercée par les lumières de réfrangibilités différentes sur les phénomènes physiologiques, des caisses en carton tapissées intérieurement et extérieurement de papier noir, et dont la paroi postérieure était pourvue d'une trappe que l'on pouvait fermer. La paroi antérieure possédait une grande ouverture. Des flacons en verre à parois parallèles (fig. 8), remplis du liquide coloré, étaient convenablement disposés vis-à-vis de cette ouverture. Les dissolutions de bichromate de potassium ou d'oxyde de cuivre ammoniacal étaient versées dans les cloches à double paroi ou dans les flacons que nous venons de décrire, puis examinées au spectroscope en introduisant le tube de cet instrument dans la cloche, ou en plaçant le flacon à parois parallèles exactement contre la fente. Les liquides employés doivent se trouver à un degré de concentration tel qu'ils ne laissent passer : les

uns, que les rayons lumineux les moins réfrangibles; les autres, que les rayons les plus réfrangibles.

En exposant des solutions de chlorophylle brute à l'action des rayons les plus réfrangibles ou des rayons les moins réfrangibles, on s'aperçoit que ces derniers amènent la décomposition (décoloration) de la chlorophylle beaucoup plus rapidement que les autres. Les rayons dits chimiques, c'est-à-dire ceux qui jouissent de la propriété de décomposer le chlorure d'argent, se partagent donc inégalement dans la décomposition de la chlorophylle, car le mélange des rayons les plus réfrangibles sera plus riche en rayons chimiques que le mélange des rayons les moins réfrangibles. Ce dont on peut aisément s'assurer en exposant un papier photographique à ces lumières de refrangibilités différentes (1).

9. La coloration automnale des feuilles et la coloration hivernale des organes persistants des plantes.

En automne, avant leur chute, beaucoup de feuilles se colorent en rouge. Ce phénomène s'observe particulièrement bien chez les feuilles de *Rhus* ainsi que chez celles du *Cornus sanguinea* et de l'*Ampelopsis hederacea*. Les feuilles de ces plantes laissent plus spécialement apercevoir la coloration rouge à leur face supérieure, et l'étude au microscope de sections transversales minces nous montre que ce sont surtout les cellules du parenchyme palissadique qui contiennent le pigment rouge. Celui-ci est en dissolution dans le suc cellulaire. Les éléments épidermiques ne possèdent pas de matière colorante. Lors du jaunissement automnal des feuilles, les corps chlorophylliens en voie de désorganisation prennent une coloration jaune, comme le montre l'examen des feuilles d'érables en automne. Quelques espèces de feuilles, celles des chênes, par exemple, se colorent en brun à l'automne : phénomène qui doit être attribué à la coloration brune des membranes et du contenu cellulaires.

Il est intéressant d'étudier les modifications que subissent les colorations des plantes qui résistent à l'hiver. Quand, en automne ou en hiver, les premières gelées ont apparu, on remarque que la face exposée à la lumière des rameaux de *Thuia orientalis* a pris une couleur brune. Ce phénomène provient d'une modification passagère de la chlorophylle, provoquée par le froid. Le pigment brun formé se dissout dans le protoplasme, et finalement la masse fondamentale plasmique des grains de chlorophylle est désorganisée. On peut facilement montrer, sur des sections transversales minces de rameaux de *Thuia*, la présence du contenu brun des cellules du parenchyme palissadique (2). En portant

(1) Pour la littérature détaillée, voy. Detmer, *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, 1883, p. 18.

(2) On trouvera des indications sur la structure anatomique des rameaux de *Thuia* (du *T. occidentalis*, et non du *T. orientalis*) dans le travail de Frank; *Pringsheim's Jahrbücher*, vol. 9, p. 159.

des rameaux brunis de *Thuia* dans une chambre chauffée, on régénère les grains de chlorophylle, et les matériaux d'étude reverdissent. Des rameaux brunis de *Thuia orientalis* que j'avais placés dans l'obscurité, à une température de 15-20° C, étaient redevenus verts au bout de huit jours.

On doit considérer la coloration hivernale rouge des organes persistants des plantes, comme étant produite par la formation d'un pigment rouge soluble dans le suc cellulaire, alors que les grains de chlorophylle restent intacts et n'éprouvent, tout au plus, qu'un changement de position dans les cellules. En étudiant pendant l'hiver des sections transversales de feuilles de *Mahonia aquifolium*, on remarque que ce sont plus particulièrement les cellules du parenchyme palissadique qui contiennent le pigment rouge (1).

10. La formation de la chlorophylle.

On fait germer dans l'obscurité, dans une armoire, par exemple, quelques graines de lupins, semées dans un pot à fleurs contenant de la terre de jardin. Il n'est pas excessivement facile d'obtenir un endroit absolument privé de lumière; aussi, ne faut-il pas perdre ce fait de vue, lorsqu'il s'agira de cultiver des plantes dans l'obscurité la plus complète possible. Pour l'usage auquel nous destinons ces matériaux d'étude, il suffira d'ailleurs, dans l'armoire, de renverser une caisse opaque de carton sur les pots renfermant les graines, et de boucher avec soin l'ouverture de la serrure.

L'axe hypocotylé et les cotylédons ne tardent pas à se montrer à la surface du sol, si les conditions de germination sont quelque peu favorables. Les cotylédons ne sont pas verts, comme ceux des plantules de lupin qui ont crû à la lumière; ils possèdent une coloration jaune. En examinant au microscope des sections transversales de ces cotylédons, on distingue nettement l'épiderme, les faisceaux libéro-ligneux et le parenchyme foliaire. Les cellules de ce dernier tissu, surtout celles qui sont situées à la périphérie de l'organe, renferment, abstraction faite des éléments ordinaires, des granules colorés en jaune; ce sont des grains d'étioline. Si on expose à la lumière des plantules cultivées dans l'obscurité, elles ne tardent pas à verdir, et, dans les cellules du parenchyme foliaire, on rencontre alors des grains de chlorophylle. Ceux-ci proviennent des grains d'étioline, dont ils ne se distinguent que par leur couleur verte et leurs dimensions plus considérables. Les plantules de *Phaseolus* ou de *Pisum* cultivées à l'obscurité donnent de longues tiges blanches et de petites feuilles jaunes. J'ai observé que les feuilles de pois qui avaient formé plusieurs entrenœuds dans l'obscurité,

(1) Voy. pour la coloration hivernale des organes persistants des plantes : H. V. Mohl, *Vermischte Schriften*, p. 375, et G. Haberlandt, *Sitzungsberichte d. Akademie der Wiss. zu Wien*, vol. 72, Abtheil. I, Aprilheft.

ne verdissaient plus que partiellement, et jamais complètement, lorsqu'on les exposait ensuite à la lumière. A la lumière, les feuilles les plus jeunes produisaient bien de la chlorophylle, mais les feuilles âgées demeuraient jaunes.

La plupart des plantes ne forment de la chlorophylle verte, normale, qu'en présence de la lumière. Quelques végétaux jouissent cependant de la propriété de verdir à l'obscurité. En semant, par exemple, des graines de *Pinus silvestris* sur de la terre de jardin, et en les faisant germer en l'absence de lumière (leur germination est relativement lente), on observe que la racine s'échappe la première de la graine. L'axe hypocotylé se montre ensuite, mais il est d'abord recourbé en forme de genou, les cotylédons se trouvant encore enfermés dans la graine. Enfin, lorsque les cotylédons sortent du sol, l'axe hypocotylé se redresse et la germination est achevée. Ce qui est particulièrement digne de remarque, c'est que les cotylédons sont verts. Je me suis assuré que le verdissement des cotylédons du *Pinus silvestris* pouvait s'accomplir dans un endroit obscur dans lequel les plantules de froment, loin de verdir, prenaient une coloration jaune.

Les plantules de mono ou de dicotylées (*Phaseolus*, *Pisum*, *Raphanus*, *Triticum*, *Zea*, etc.) ne verdissent pas seulement quand elles sont exposées à une lumière relativement intense. La formation de chlorophylle se produit également dans une lumière très faible : ce que l'on peut aisément démontrer en exposant les matériaux d'étude contre le mur postérieur d'une chambre et en les ombrageant d'une manière convenable. La lumière artificielle peut aussi provoquer le verdissement des plantes. J'ai placé des plantules de froment, ayant développé une plumule de 2 à 3 centimètres de longueur, à 15 centimètres de la flamme d'une lampe à pétrole. Les plantules étaient disposées, avec un peu d'eau, dans un cristallisoir. Au bout de quelques heures, mes matériaux d'étude étaient nettement verts. Des plantes qui me servaient de témoins, tenues à l'obscurité, ne verdirent point.

Il sera maintenant intéressant d'examiner l'action de lumières de réfrangibilités différentes sur la formation de la chlorophylle. A cette fin, on place, avec un peu d'eau, dans des petits vases en verre, des plantules de froment, par exemple, qui se sont développées dans l'obscurité et dont la plumule a atteint environ 2 centimètres de longueur. On porte ensuite les vases sous des cloches à double paroi, remplies : les unes, d'une dissolution de bichromate de potassium; les autres, d'une dissolution d'oxyde de cuivre dans l'ammoniaque (voy. § 8). En plaçant du papier photographique sous les cloches, on pourra facilement s'assurer que la lumière jaune, donnée par la première dissolution, est presque complètement dépourvue de radiations chimiques. La lumière qui a traversé la dissolution d'oxyde de cuivre dans l'ammoniaque décompose rapidement la chlorophylle. Il m'a été donné d'observer pendant une sombre matinée de novembre, que la plumule des plantules

de froment verdissait complètement sous l'influence de la lumière jaune du bichromate de potassium, et que les plantules qui avaient été soumises à l'action de la lumière bleue fournie par l'oxyde de cuivre ammoniacal, possédaient une plumule vert-clair. Les appareils étaient placés à une distance de 5 mètres de la fenêtre, dans une chambre tournée vers le sud et maintenue à une température d'environ 20° C. Si, au contraire, on expose les appareils à l'action directe de la lumière du soleil, le verdissement se produit le plus rapidement sous l'influence de la lumière bleue. Mais il ne faut point se méprendre sur le résultat de cette dernière expérience. J'ai pu m'assurer, en effet, que l'air s'échauffe bien davantage sous une cloche à double paroi contenant une dissolution d'oxyde de cuivre dans l'ammoniaque soumise à l'action de la lumière solaire directe, que sous une cloche à oxyde de cuivre ammoniacal. La première dissolution absorbe considérablement les radiations calorifiques. Il en résulte qu'on ne peut soumettre indifféremment à la lumière diffuse ou à la lumière solaire directe, les matériaux d'étude cultivés dans l'obscurité. On expose des plantules de froment à plumule jaune : d'une part, à lumière diffuse; d'autre part, à la lumière solaire directe. On remarque que les premières verdissent rapidement, au bout de 3 heures, par exemple, tandis que les autres ne produisent de la chlorophylle que beaucoup plus lentement. Nous avons eu l'occasion de voir, dans le § 8, que la chlorophylle extraite par l'alcool des organes verts des plantes est rapidement décomposée (décolorée) sous l'influence de la lumière directe du soleil, et que cette action ne se manifeste que très lentement à la lumière diffuse. Ce fait nous donne l'explication des phénomènes signalés plus haut. Dans la lumière directe du soleil, soit qu'elle agisse immédiatement ou qu'elle ait traversé une dissolution de bichromate de potassium, les plantules ne verdissent que fort lentement, parce que la chlorophylle est en grande partie de nouveau détruite. Mais cette décomposition énergique de la chlorophylle ne peut se produire ni dans la lumière diffuse ni dans la lumière directe du soleil qui a passé à travers une dissolution d'oxyde de cuivre dans l'ammoniaque. C'est pourquoi, la chlorophylle formée s'accumule alors rapidement dans les cellules des plantules. Une faible lumière diffuse ne décompose la chlorophylle qu'un peu plus rapidement. Lorsqu'on les dispose sous des cloches à double paroi très éloignées de la fenêtre, les plantules verdissent plus rapidement sous l'action des rayons jaunes que sous l'influence des rayons bleus. Les premiers, en effet, manifestent presque exclusivement leur pouvoir chlorophyllogène, qui surpasse de beaucoup leur pouvoir décomposant (1).

Pour rechercher si les radiations de la chaleur obscure font verdir les plantules qui se sont dévelopées à l'obscurité, on porte, par exem-

(1) Wiesner, *Sitzungsberichte d. Akademie d. Wiss. in Wien*, B. 69, I. Abtheilung.

ple, des plantules de froment à plumule jaune placées dans de petits vases en verre sous des cloches à double paroi, dans lesquelles on a versé une dissolution d'iode dans le sulfure de carbone. Cette dissolution, lorsqu'elle est très concentrée, absorbe les radiations lumineuses et laisse passer les radiations calorifiques. Les cloches placées sur un bain de sable sont exposées à la lumière solaire directe. Les matériaux d'étude ne verdissent point.

Pour étudier la relation qui existe entre la production de chlorophylle et la température, on peut, comme matériaux d'étude, faire usage, par exemple, de plantules d'orge. On remplit avec de la terre de jardin toute une série de petits pots à fleurs, puis on sème des grains d'orge dans ces pots et on les place dans l'obscurité. Quand la plumule des plantules a atteint environ 2 centimètres de longueur, on porte un des pots à fleurs en face d'une fenêtre, dans une chambre tournée vers le nord et dans laquelle il règne une température de 6° C. Dans une chambre voisine, dans laquelle le thermomètre indique 20° C., on expose de la même manière un autre pot à fleurs. Les plantes trouvent donc les mêmes conditions d'éclairage dans ces deux chambres, mais elles y sont soumises à des températures différentes On constatera de cette façon qu'à 6° C., le verdissement se produit beaucoup plus lentement qu'à 20° C. La production de chlorophylle s'effectue de même plus rapidement à 30° C. qu'à 20° C.; mais à 37° C., elle est ralentie, et à 45° C. elle est arrêtée. Pour procurer aux plantules des températures de 30, 37 et 45° C., on fait usage de thermostats chauffés à ces températures (on trouvera dans la seconde partie, à propos de recherches sur la pression qu'exercent les racines, la description et le dessin d'un thermostat convenable pour ce genre de recherches). Notons encore que les matériaux d'étude, avant d'être éclairés, doivent avoir séjourné pendant quelque temps dans des endroits dont la température est exactement connue, afin que la température du pot et de la terre soient uniformes. Il existe, comme on le voit, dans le phénomène du verdissement des plantes, des températures *maxima, optima et minima*. Ces températures varient avec les plantes (1).

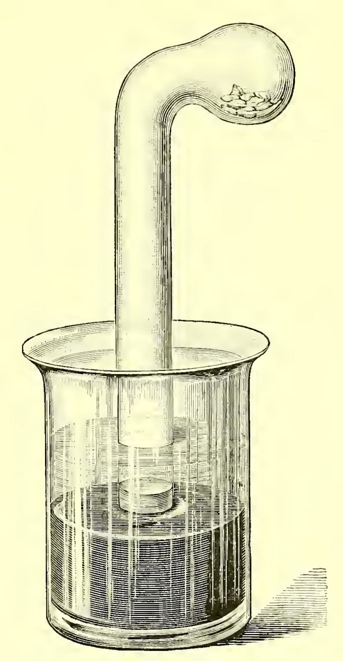


Fig. 9. — Cloche recourbée dont l'ouverture est plongée dans du mercure.

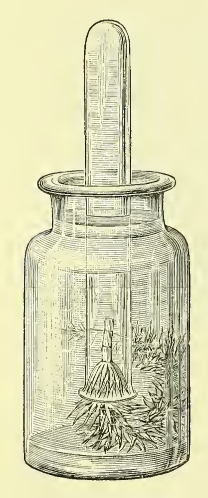
(1) Voy. Wiesner, *Die Entstehung des Chlorophylls in den Pflanzen*, Wien, 1877.

Enfin, démontrons encore que ce phénomène de verdissement ne peut se produire à la lumière en l'absence d'oxygène. On remplit deux cloches courbes *a* et *b* d'eau bouillie en vase clos, puis refroidie. On introduit ensuite dans l'eau de ces cloches quelques plantules de froment cultivées à l'obscurité, et on plonge l'extrémité ouverte de chaque cloche dans du mercure (fig. 9). De l'hydrogène pur est dirigé alors dans l'appareil *a*, de manière à en chasser presque complètement l'eau. L'appareil *b* contient de l'air atmosphérique. Si on expose les vases à l'action de la lumière, on constate que les plantules du vase *b* verdissent rapidement tandis que celles du vase *a* ne changent point (1).

On préparera l'hydrogène utilisé dans cette expérience, en versant de l'acide sulfurique dilué sur du zinc, et on le purifiera en lui faisant traverser des solutions de nitrate d'argent et de permanganate de potassium.

11. La production d'oxygène pendant l'assimilation.

Sous l'influence de la lumière, les corps chlorophylliens décomposent l'anhydride carbonique. L'oxygène se dégage, et sa présence peut être décelée en faisant usage de matériaux d'étude convenables.


Fig. 10. — Appareil pour recueillir l'oxygène dégagé par les plantes aquatiques.

Nous versons dans un vase en verre 200 c. c. environ d'eau ordinaire, dans laquelle on a dissous une quantité peu considérable d'anhydride carbonique pur. Cet anhydride carbonique est produit en traitant du marbre par de l'acide chlorhydrique dilué. Pour débarrasser l'anhydride carbonique ainsi formé, de la petite quantité d'acide chlorhydrique qu'il entraîne avec lui, on le fait passer à travers une solution de bicarbonate de sodium. On choisira de préférence, comme objet d'étude, un bourgeon terminal, assez long, d'*Hippuris vulgaris*, que l'on introduit sous l'eau, comme la fig. 10 le montre, dans un tube à réactions rempli d'eau. Cet appareil est ensuite exposé pendant quelque temps à l'action directe de la lumière solaire. Il se dégage des bulles de gaz de la surface de section de l'objet tournée vers le haut. Ces bulles s'accumulent de plus en plus dans le tube à réactions où elles ne tardent pas à former une masse considérable. On ferme l'ouverture du tube sous l'eau avec le doigt. En retournant le tube et en y plongeant un copeau en ignition, on remarque aussitôt que celui-ci donne une flamme éclairante. Notre plante a par conséquent produit de l'oxygène.

Cette expérience particulièrement intéressante, pour montrer le

(1) Voy. Detmer, *Landwirthschl. Jahrbücher*, vol. 11.

dégagement d'oxygène des plantes en train d'assimiler, peut aussi être instituée d'une autre façon (fig. 11). On place un certain nombre de fragments de tiges d'*Elodea* ou de *Ceratophyllum* dans un vase rempli d'eau ayant dissous de l'anhydride carbonique, et on les recouvre d'un entonnoir. Celui-ci est complètement immergé. Un tube à réactions rempli d'eau est ensuite renversé sur l'entonnoir, de manière à en coiffer la queue. L'appareil ainsi formé est exposé à l'action directe de la lumière solaire. Comme dans l'expérience précédente, de l'oxygène, ou

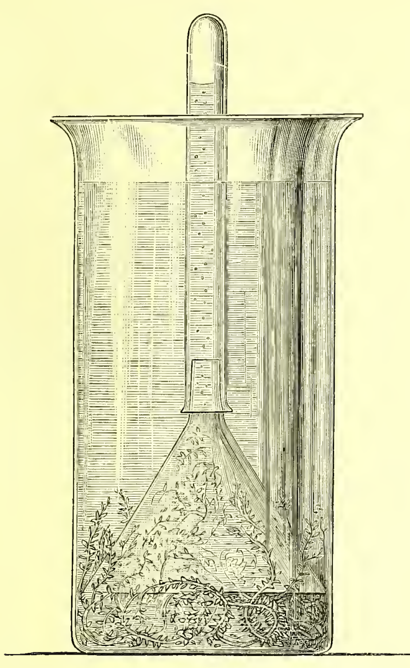


Fig. 11. — Appareil pour recueillir l'oxygène dégagé par les plantes aquatiques pendant l'assimilation.

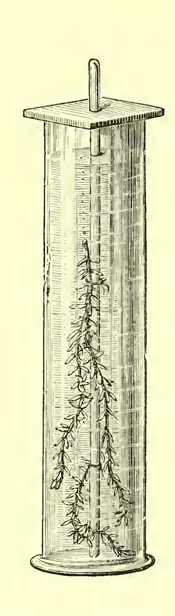


Fig. 12. — Appareil pour observer le dégagement des bulles de gaz des plantes aquatiques en train d'assimiler.

plutôt de l'air riche en oxygène, s'accumulera dans le tube à réactions.

Un vase cylindrique en verre est rempli d'eau ordinaire. On aura soin, si l'eau que l'on emploie est pauvre en anhydride carbonique. d'y dissoudre une petite quantité de ce gaz. On plonge dans le liquide un fragment de tige d'*Elodea* ou d'*Hippuris* attaché à une baguette, de verre, la surface de section en haut (fig. 12). Sous l'action de la lumière, cette surface laissera échapper des bulles de gaz. Le nombre de bulles produites pendant un temps déterminé peut donner des indications sur l'énergie avec laquelle l'assimilation s'effectue dans les organes verts des plantes. Sous l'action directe de la lumière du soleil, les morceaux de tiges d'*Elodea* laissent souvent échapper un

courant si intense de petites bulles qu'il est difficile, et parfois même impossible, d'en évaluer le nombre pendant un temps donné. Dans les mêmes circonstances, d'autres rameaux de cette plante peuvent d'ailleurs assimiler moins énergiquement. Les bulles de gaz qui se dégagent des morceaux de tiges d'*Hippuris* sont assez grosses, mais ne sont pas aussi nombreuses.

Il nous suffira de nous assurer que le dégagement d'oxygène des organes verts des plantes est plus vif dans une lumière diffuse intense que sous l'action d'une lumière de moindre intensité. Nous n'étudierons pas d'une manière spéciale la relation qui existe entre le degré d'intensité de la lumière et l'énergie de l'assimilation, et nous nous bornerons à exposer à l'action d'une vive lumière diffuse une branche d'*Elodea* plongée sous l'eau et attachée à une baguette en verre. Nous compterons ensuite le nombre de bulles qui sortent de la surface de section pendant un temps déterminé, pendant cinq minutes, par exemple. En face de l'appareil, nous disposerons alors une lame en verre mat et nous verrons qu'il s'élève, pendant le même temps, moins de bulles qu'auparavant. Si nous plongions le rameau d'*Elodea* dans une obscurité complète, nous arrêterions aussitôt la production d'oxygène.

Des fragments de tiges d'*Hippuris* ou d'*Elodea* sont immergés dans de l'eau ordinaire dans laquelle il y a une petite quantité d'acide carbonique. On les expose à une vive lumière diffuse ou à l'action directe des rayons du soleil, et on compte le nombre de bulles de gaz qui se dégagent pendant un temps donné. Puis on recouvre le vase contenant les matériaux d'étude au moyen d'une cloche à double paroi contenant une dissolution de bichromate de potassium, et on compte de nouveau le nombre de bulles qui se dégagent pendant le même temps. Ce calcul fait soit pour une vive lumière diffuse, soit pour la lumière directe du soleil, on ôte la cloche et on la remplace par une autre remplie d'une dissolution d'oxyde de cuivre dans l'ammoniaque. Le nombre de bulles dégagées alors sera aussi noté avec soin. On fera bien de placer un thermomètre dans l'eau qui entoure les matériaux d'étude, afin de pouvoir contrôler l'action de la température pendant chacun des stades de l'expérience. On arrive, dans ces conditions, à pouvoir établir ce fait intéressant, que les rayons les moins réfrangibles, qui ont passé à travers la dissolution de bichromate de potassium, déterminent chez les organes verts des plantes un dégagement d'oxygène, presque aussi énergique que la lumière blanche, tandis que ce dégagement, sous l'action des radiations les plus réfrangibles traversant la dissolution ammoniacale d'oxyde de cuivre ne se produit qu'avec une très minime énergie (1).

Des morceaux de tiges d'*Elodea* ou d'*Hippuris* sont plongées à côté

(1) Dans mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, on trouvera des données numériques au sujet de l'influence que les lumières de réfrangibilités différentes exercent sur le phénomène de l'assimilation.

d'un thermomètre dans une éprouvette contenant de l'eau chargée d'acide carbonique. La température indiquée par ce thermomètre est d'environ 12° C. Nous comptons le nombre de bulles qui s'échappent sous l'action de la lumière pendant un temps déterminé, en 1, 3 ou 5 minutes, par exemple. Ensuite, nous chauffons jusqu'à environ 24° C. l'eau contenue dans le vase sans en retirer les plantes; ce qui nous permettra de voir que le nombre de bulles produites par les fragments de tiges d'*Elodea* ou d'*Hippuris* est considérablement plus élevé que lorsque la température est moindre. Il faut naturellement veiller à ce que les plantes soient exposées pendant ces recherches à la même intensité lumineuse. C'est pour ce motif qu'on instituera de préférence ces expériences les jours où le ciel est tout à fait serein. La température optimum pour le dégagement d'oxygène de l'*Elodea* et de l'*Hippuris*, qui d'ailleurs n'a pas encore pu être déterminée exactement, doit être considérée comme s'élevant à environ 32° C. Lorsque la température dépasse cet optimum, le dégagement d'oxygène est de nouveau ralenti (1).

On expose à l'action de la lumière quelques morceaux de tiges d'*Elodea* plongés dans de l'eau ordinaire contenant de l'acide carbonique, additionnée de chloroforme. Le dégagement d'oxygène dure excessivement longtemps (plus d'un 1/4 d'heure, dans mes expériences). Finalement, il s'arrête complètement grâce à l'action nocive du chloroforme.

Il suffit, pour démontrer que les organes végétaux dépourvus de chlorophylle ne jouissent pas de la propriété d'assimiler, de placer des fragments de racines dans de l'eau chargée d'acide carbonique; il ne se produira point de dégagement d'oxygène.

12. L'acide carbonique et l'assimilation.

L'acide carbonique mis en œuvre par l'assimilation provient, en dernière analyse, de l'air atmosphérique. Celui-ci est un mélange gazeux constitué, abstraction faite de quelques corps peu importants, par environ 80 parties en volume d'azote, 20 parties d'oxygène et une petite quantité d'acide carbonique (il n'y a que 3 parties en volume d'acide carbonique dans 10,000 parties d'air). Il est facile de montrer que l'air contient de l'oxygène. Pour cela, on fixe un morceau d'ouate imbibé d'alcool à une des extrémités d'un fil métallique de gros diamètre, recourbé deux fois à angle droit. L'alcool enflammé est introduit sous un vase cylindrique en verre. Si, alors, on plonge rapidement l'extrémité ouverte du vase dans l'eau, on remarque que le liquide s'élève aussitôt dans le vase et que la flamme s'éteint. L'al-

(1) Voy. Heinrich, *Versuchsstationen*, vol. 13, p. 136.

cool a employé de l'oxygène pour sa combustion. Il l'a enlevé à l'air du vase, et l'eau s'est élevée dans ce vase proportionnellement à la quantité d'oxygène disparue.

Il est aisé de montrer aussi que l'air atmosphérique contient de l'acide carbonique. On dirige un courant d'air, produit au moyen d'une pompe à filtrer, dans de l'eau de baryte incolore. Celle-ci se trouble de plus en plus, parce que l'acide carbonique y produit un précipité de carbonate de baryum. Pour effectuer des recherches quantitatives sur la teneur en acide carbonique de l'air atmosphérique, on mesurera au moyen d'un compteur à gaz la quantité d'air extraite par l'aspirateur (on trouvera plus de détails sur la détermination de la teneur en acide carbonique des mélanges gazeux dans la troisième partie, à propos de la respiration).

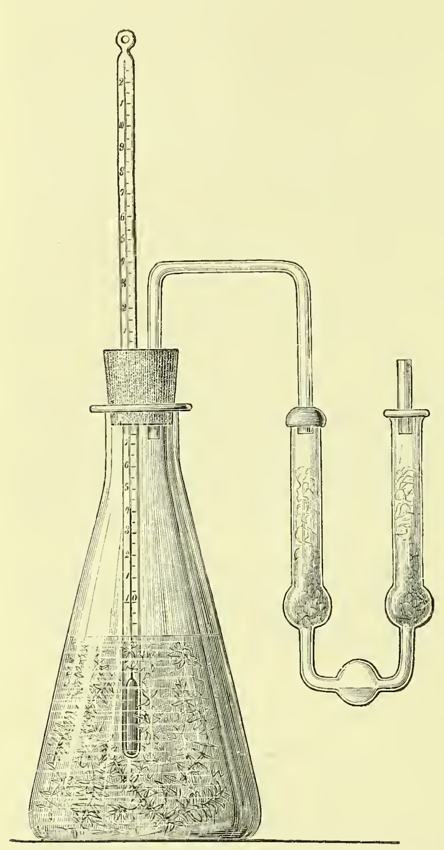


Fig. 13. — Appareil pour démontrer que les plantes vertes ne peuvent dégager de l'oxygène que lorsqu'elles ont de l'anhydride carbonique à leur disposition.

L'eau jouit de la propriété de dissoudre un certain volume d'air. On place sous le récipient d'une machine pneumatique un verre à demi rempli d'eau ordinaire. Dès qu'on fait le vide, la pression atmosphérique diminue rapidement à la surface du liquide et aussitôt l'air dissous se dégage. Si on a soin d'ajouter de l'eau de chaux ou de baryte, incolore, il se produit un trouble plus ou moins considérable : du carbonate de calcium ou de baryum se précipite. Le trouble qui apparaît alors, ne prouve pas d'une manière rigoureuse que l'eau contient de l'acide carbonique libre en dissolution; il peut aussi avoir été produit par de l'acide carbonique en combinaison dans le bicarbonate de calcium, qui pouvait se trouver dans l'eau employée.

Sans la présence d'acide carbonique dans le milieu ambiant (air ou eau), il ne peut y avoir assimilation, production de substances organiques et, par conséquent, aucun dégagement d'oxygène. On démontrera plus loin qu'il ne peut se former de matières organiques que lorsqu'il n'y a point manque d'acide carbonique. Qu'il nous suffise ici

de démontrer expérimentalement que les cellules chlorophylliennes des plantes ne dégagent de l'oxygène, que lorsqu'elles ont de l'acide carbonique à leur disposition. Un flacon conique de verre, à fond plat, d'une capacité d'environ 400 c. c., reçoit 300 c. c. à peu près, d'eau ordinaire On plonge ensuite un grand nombre d'*Elodéas* dans l'eau, et on ferme l'ouverture du flacon au moyen d'un bouchon en caoutchouc, percé d'un orifice dans lequel on a introduit une des branches d'un tube de verre recourbé. Celui-ci est mis en relation avec un tube en U rempli de petits morceaux de potasse caustique et de pierre ponce imbibée d'une lessive de potasse (fig. 13). L'air, pour parvenir aux plantes, doit traverser le tube en U qui le débarrasse de son acide carbonique. Si nous exposons cet appareil à l'action de la lumière solaire directe, nous remarquons que nos plantes entretiennent un vif dégagement d'oxygène aux dépens de l'acide carbonique dissous dans l'eau. En prenant la précaution de ne point perdre de vue nos *Elodéas*, et en comptant de temps en temps, à peu près toutes les deux heures, le nombre de bulles dégagées par minute, on constatera que le dégagement d'oxygène diminue de plus en plus, pour s'éteindre dès que tout l'acide carbonique de l'eau aura été consommé (dans mes expériences, après 6 heures). En ouvrant l'appareil et en dirigeant une petite quantité d'acide carbonique dans l'eau, le dégagement d'oxygène recommence à la lumière (1).

13. Rapports volumétriques suivant lesquels l'échange des gaz s'effectue pendant l'assimilation.

Dans les expériences que nous instituerons, nous nous servirons d'une méthode qui a été très exactement décrite par Pfeffer et qui a été employée aussi par Holle (2). On fait usage de l'appareil représenté par la fig. 14. Cet appareil consiste essentiellement en un tube de verre élargi à sa partie supérieure et dont la hauteur totale est d'environ 360 millim. La portion cylindrique *c*, qui a été calibrée, a une hauteur d'environ 260 millim. La région élargie *b*, qui a une longueur de 70-75 millim., est surmontée par un petit tube ouvert *a*. Le volume total de l'appareil est d'environ 115-120 c. c., dont 75 appartiennent à la partie élargie. Le zéro de la graduation coïncide avec l'extrémité supérieure du petit tube *a*. Les degrés ne sont marqués que sur la portion cylindrique, dont le diamètre est de 14-15 millim.

Dans les recherches concernant les rapports en volumes suivant lesquels les échanges gazeux s'effectuent chez les feuilles en train d'assimiler, on aura soin d'enlever, quand c'est possible, la plus grande

(1) Voy. Frank Schwarz, *Untersuchungen aus d. botan. Institut zu Tübingen*, vol. 1, p. 97.

(2) Voy. Holle, *Flora*, 1877.

partie du pétiole des matériaux d'étude. Autour du reste du pétiole, on enroule ensuite plusieurs fois un mince fil de fer *d*, de manière à fixer la feuille et à la mantenir droite. Cette feuille, assujettie au fil de fer, est alors poussée dans la portion cylindrique de l'appareil; opération qui réussit le mieux lorsqu'on prend la précaution de replier délicatement en arrière les bords de la feuille en l'introduisant dans le tube, où on la fait avancer au moyen d'une baguette.

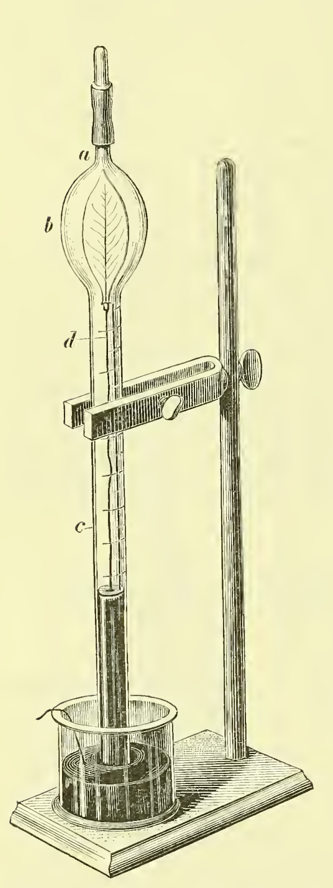


Fig. 14. — Appareil pour mesurer la quantité d'anhydride carbonique que les plantes décomposent pendant l'assimilation.

L'extrémité inférieure de la portion cylindrique sera plongée dans un vase en verre contenant du mercure. A l'aide d'une pipette étirée en pointe et recourbée, on portera ensuite 0,3 c. c. d'eau dans la portion cylindrique de l'appareil, au-dessus du mercure. Sur le tube *a*, jusqu'à présent maintenu ouvert, on glisse un petit tuyau de caoutchouc, qui servira à mettre l'appareil en communication avec un aspirateur. Dès que celui-ci aura enlevé une petite quantité d'air, le mercure montera dans la portion cylindrique inférieure de l'appareil. A un moment donné, on fermera le tuyau en caoutchouc au moyen d'une pince. On introduira ensuite dans ce tuyau un morceau de baguette de verre que l'on fera descendre jusqu'au bord du petit tube *a* et qui, par sa surface polie et graissée, fermera complètement l'ouverture du petit tube.

On pourra procéder aux lectures nécessaires quand le mercure se sera élevé dans la portion cylindrique de l'appareil, et que, après un certain temps, les températures, des gaz se seront égalisées. Le volume occupé par le gaz sera mesuré à partir du ménisque concave de l'eau. On déterminera ensuite la hauteur de la couche d'eau et de la colonne de mercure au-dessus du niveau. Les hauteurs, exprimées en millim., de la colonne mercurielle et de la couche d'eau convertie en colonne mercurielle, constituent des pressions que l'on soustraira de la hauteur barométrique. La température et la hauteur barométrique doivent évidemment avoir été notées très exactement. Du volume du gaz, ainsi obtenu, on retranchera encore le volume du fil de fer ainsi que celui de la feuille : volumes que l'on peut établir aisément par un procédé très connu, c'est-à-dire par immersion. On le diminuera aussi de

0,3 c. c., pour le ménisque de l'eau. Le volume gazeux réduit à 0° C., sous la pression qu'exerceraient 1000 millim. de mercure et pris à l'état sec, sera donc exprimé par la formule [1] :

$$V^1 = \frac{(v - m)\ (b - b^1 - b^2).}{(1 + 0{,}00366\ t^o)}$$

V^1 est le volume réduit du gaz; v représente le volume du gaz lu sur l'appareil; m, la correction pour le ménisque; b, la hauteur barométrique; b^1, la hauteur mercurielle de la portion cylindrique de l'appareil, que l'on doit soustraire; b^2, la tension de la vapeur d'eau à la température de t^o.

On introduit maintenant une petite quantité d'acide carbonique dans l'eudiomètre (environ 8 c. c.) et on détermine derechef le volume gazeux à l'intérieur de l'appareil. En soustrayant le nombre exprimant le volume primitif du nombre représentant le volume obtenu en second lieu et réduit, on obtiendra le volume d'acide carbonique employé. On aura soin de toucher le moins possible l'appareil en introduisant l'acide carbonique et en général en effectuant les opérations précédentes, de manière à avoir très rapidement une température uniforme avant les lectures (en 10-20 minutes environ).

Toutes ces recherches analytiques doivent être entreprises en l'absence de lumière solaire directe. L'appareil pourra cependant être exposé à l'action des radiations directes du soleil pendant quelques heures quand on y aura introduit l'acide carbonique, afin de provoquer une assimilation énergique. Après cette exposition, on pourra enlever la feuille de l'eudiomètre pendant environ deux heures. Dès que l'eudiomètre sera complètement refroidi, on lira le volume occupé par le gaz. A l'aide d'une pipette fermée à son extrémité supérieure et chauffée par la température de la main, de la potasse est versée ensuite dans la portion cylindrique de l'appareil. On détermine de nouveau le volume gazeux, quand l'acide carbonique qui n'est pas décomposé par le phénomène de l'assimilation, aura été absorbé.

Les expériences concernant les échanges gazeux qui s'effectuent pendant l'assimilation, se feront de préférence avec des feuilles de *Prunus laurocerasus* et de *Nerium*. Ces feuilles devront avoir été exposées à la lumière avant d'être employées, afin qu'elles ne détiennent pas dans leurs tissus l'anhydride carbonique absorbé. Elles resteront de 3 à 6 heures exposées à la lumière dans l'eudiomètre; pendant ce temps, une quantité importante de l'anhydride carbonique introduit peut être décomposée, surtout à l'action de la lumière solaire directe. Remarquons qu'il suffira d'introduire 6-8 c. c. d'anhydride carbonique dans l'eudiomètre. Il convient dans beaucoup de cas, notamment quand l'intensité de la lumière solaire à laquelle les feuilles sont soumises est très considérable, de recouvrir l'eudiomètre d'une

cloche à double paroi contenant de l'eau, pour que les feuilles et le gaz ambiant ne s'échauffent pas trop fortement. Dans une lumière trop intense, on pourra d'ailleurs ombrager quelque peu l'eudiomètre en se servant d'écrans de papier. Pour étudier l'influence des lumières colorées sur l'énergie de la décomposition de l'anhydride carbonique, on place l'eudiomètre sous des cloches en verre à double paroi contenant des solutions colorées (voy. l'ouvrage cité de Pfeffer).

La façon dont les feuilles se comportent vis-à-vis de la lumière blanche nous intéresse ici plus particulièrement. Sous l'action de cette lumière, des quantités considérables d'anhydride carbonique sont décomposées en peu de temps et on pourra s'assurer, si on a suivi ponctuellement la méthode indiquée, que le volume gazeux qui reste dans l'eudiomètre après avoir exposé les feuilles à l'action de la lumière solaire, est précisément le même qu'auparavant. On fera naturellement abstraction de très petites différences qui sont du domaine des erreurs d'observations. Il se dégage donc pendant l'assimilation une quantité d'oxygène dont le volume est égal à celui de l'anhydride carbonique décomposé.

14. Preuves macro et microchimiques de la présence d'amidon dans les organes de l'assimilation.

Dans un très grand nombre d'organes végétaux verts, l'amidon constitue le premier produit facilement visible de l'assimilation. C'est une tâche des plus banales pour le physiologiste, que de montrer l'existence de cet amidon dans les organes qui servent à l'assimilation. Cela peut se faire soit par voie macrochimique, soit par voie microchimique. Nous examinerons d'abord la première voie.

La méthode la plus simple est celle dont Sachs (1), dans ses expériences remarquables, a le premier fait usage. Elle consiste à placer pendant quelques minutes dans l'eau bouillante les matériaux d'étude dont on cherche à observer le contenu amylifère, et de les porter ensuite dans de l'alcool très fort, chauffé à 60° C. (il est très avantageux de travailler avec des feuilles de *Tropæolum*, d'*Helianthus*, de *Solanum* ou de *Phaseolus*). En employant une grande quantité d'alcool, tout le contenu chlorophyllien des feuilles disparaîtra rapidement et, au bout de quelques minutes, les matériaux d'étude deviendront incolores. On place ensuite les feuilles dans une dissolution d'iode, qui se prépare en dissolvant une très grande quantité d'iode dans de l'alcool très fort, et en ajoutant à ce liquide autant d'eau distillée qu'il en faut pour que la solution possède à peu près la couleur d'une bière foncée. Les feuilles sont laissées pendant une demi-heure, une heure ou même plusieurs heures dans cette dissolution, jusqu'à ce

(1) Voy. Sachs, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. 3, p. 1.

qu'elles n'éprouvent plus de changement de coloration. Elles sont ensuite enlevées de la dissolution à l'aide d'une pince et déposées dans une capsule en porcelaine blanche remplie d'eau. En l'absence d'amidon, les feuilles saturées d'iode se montrent d'un jaune-clair ou d'un jaune de cuir. Lorsqu'elles possèdent de l'amidon en petite quantité, leur couleur s'assombrit, et s'il y en a en grande quantité, elles prennent une couleur noire plus accentuée. Abandonnés pendant plusieurs heures dans une assiette contenant de l'eau, les matériaux d'étude riches en amidon et saturés d'iode présentent souvent une coloration bleue. Cette couleur était particulièrement accusée dans les expériences que j'ai entreprises avec des feuilles de *Tropæolum.*

Quand il s'agit de montrer par voie microchimique la présence ou l'absence d'amidon dans les organes de l'assimilation, les matériaux d'étude (par exemple des filaments d'algues ou des sections transversales minces de feuilles, etc.) sont plongés dans de l'alcool fort et chaud, afin d'opérer l'extraction du pigment chlorophyllien. Les préparations, décolorées sont plongées ensuite dans une dissolution d'hydrate de potassium de moyenne concentration, pendant peu de temps si la solution est chaude, pendant vingt heures si elle est froide. Après avoir été soigneusement lavées, elles sont traitées par l'acide acétique dilué, jusqu'à neutralisation complète de l'hydrate de potassium. On les lave de nouveau et on les dépose dans une goutte d'une dissolution d'iode et d'iodure de potassium (préparée en dissolvant 0,05 gr. d'iode et 0,2 gr. d'iodure de potassium dans 15 gr. d'eau (1). La méthode qui va suivre permet de montrer aisément la présence de l'amidon dans les cellules végétales vertes (2). Les matériaux d'étude (j'ai employé, avec un succès tout particulier et sans leur faire subir de préparation préalable, des feuilles d'*Elodea canadensis* et de *Funaria hygrometrica*) étaient placés sur le porte-objet dans une goutte d'une dissolution d'hydrate de chloral (5 p. d'hydrate de chloral sur 2 p. d'eau), sans procéder à l'extraction de la chlorophylle ou après avoir enlevé cette substance, ce qui est souvent nécessaire. L'examen des matériaux d'étude pourra se faire immédiatement après l'addition de quelques gouttes de la solution iodurée d'iode. La chlorophylle est dissoute et les grains d'amidon, légèrement gonflés, prennent une belle coloration bleue. Les matériaux d'étude amylifères, après avoir été traités par l'hydrate de potassium et l'acide acétique étendu, donnent la même coloration avec la solution iodo-iodurée.

Pour nous assurer que l'amidon produit pendant l'assimilation ne se forme pas en n'importe quel point de la cellule, mais seulement dans les corps chlorophylliens, nous choisirons de préférence, comme

(1) Voy. Bœhm, *Sitzungsberichte d. Akad. d. Wiss. zu Wien,* vol. 22, p. 479, et Sachs, *Botan. Zeitung,* 1864, p. 291.
(2) Voy. A. Meyer, *Das chlorophyllkorn,* 1883, p. 28.

matériaux : des spirogyres, des *Zignemas* ou des feuilles de *Funaria hygrometrica*. Nous ferons usage de la méthode exposée en dernier lieu, tout en ayant recours aussi à l'hydrate de chloral.

15. Les produits de l'assimilation.

Il n'y a absolument aucun doute à concevoir sur le fait que l'amidon se présente dans les feuilles d'un grand nombre de plantes, comme le premier produit aisément visible de l'assimilation. Il existe, par contre, d'autres végétaux qui, dans des conditions très favorables pour l'assimilation, ne produisent que des quantités relativement petites ou très petites d'amidon, et même n'en forment point du tout. Par une chaude après-midi d'été, nous détachons, dans l'espace d'une heure, des feuilles de *Tropæolum majus*, de *Phaseolus multiflorus*, d'*Helianthus annuus*, de *Polygonum*, de gentiane, de *Tamus communis* et d'*Allium cepa*. Le mieux est d'enlever ces feuilles à des plantes qui se sont développées dans des conditions aussi semblables que possible, comme, par exemple, dans l'école d'un même jardin botanique. Remarquons encore que les feuilles doivent être complètement développées. Les matériaux d'étude seront examinés, au point de vue de leur contenu amylifère, par voie macroscopique et par voie microscopique, de la manière indiquée dans le § 14. Nous constaterons que les feuilles de *Tropæolum*, de *Phaseolus* et de *Tamus* contiennent des quantités considérables d'amidon dans leurs cellules vertes; que les feuilles d'*Helianthus* en possèdent déjà moins; que le contenu amylifère des feuilles de *Polygonum* est encore moindre; que celui des feuilles de gentiane est très minime, et, enfin, que les feuilles d'*Allium* sont complètement dépourvues d'amidon.

Pour pénétrer davantage dans le détail des phénomènes qui nous occupent, nous instituerons l'instructive expérience qui va suivre. On comprime dans une toile grossière, à l'aide d'une presse à la main, une quantité considérable de feuilles d'*Helianthus tuberosus* recueillies par une après-midi d'une chaude journée d'été. On obtient ainsi un jus de coloration foncée dont on détermine le volume et qu'on soumet à l'ébullition. Après refroidissement, on remplace l'eau évaporée et on filtre. Le jus que l'on obtient au moyen de feuilles d'*Allium cepa*, récoltées en même temps que celles d'*Helianthus*, sera traité exactement de la même façon. On évalue ensuite par titrage les quantités de jus nécessaires pour réduire 10 c. c. de la liqueur de Fehling. Pour amener ce résultat, il suffit d'employer une petite quantité du jus fourni par les feuilles d'*Allium*, tandis qu'il faudra faire usage d'une importante quantité de jus d'*Helianthus*. Les feuilles qui produisent le plus d'amidon contiennent par conséquent le moins de glucose, et celles qui ne forment point d'amidon, sont riches en glucose. On peut poser en

fait, comme Sachs (1) l'a énoncé depuis longtemps déjà, et comme Arthur Meyer (2) l'a particulièrement bien démontré, que le glucose, dans les feuilles d'*Allium* et d'autres végétaux, doit être considéré comme un produit de l'assimilation.

On peut aujourd'hui considérer comme parfaitement établi, que les cellules vertes des feuilles, qui, par suite du phénomène de l'assimilation, se montrent très riches en amidon, ne forment pas d'abord de l'amidon, mais produisent du glucose aux dépens des éléments de l'anhydride carbonique et de l'eau (voy. mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, 1883, p. 38 et 198). Dans les feuilles riches en amidon, les corps chlorophylliens, grâce à certaines propriétés qui leur sont spéciales, peuvent facilement convertir ce glucose en amidon, tandis que dans les cellules foliaires d'autres plantes, la formation d'amidon, aux dépens du glucose élaboré, peut être liée à des difficultés plus ou moins grandes. Un fait d'une grande importance pour l'enchaînement des phénomènes qui nous occupent, c'est la formation d'amidon qui s'effectue dans les feuilles aux dépens du glucose qui leur est fourni de l'extérieur. Je n'ai pas fait de recherches spéciales sur ce sujet, mais j'ai pu cependant m'assurer que des feuilles pouvaient former de l'amidon aux dépens de sucre de cannes fourni extérieurement. Des fragments de feuilles d'*Iris germanica*, à l'état frais, qui possédaient environ 10 cm. de longueur, furent déposés, sans enlever leur couche cireuse, sur une dissolution à 20 °/₀ de sucre de cannes, contenue dans un cristallisoir. Les fragments de feuilles flottaient à la surface de la dissolution et l'une de leurs faces ne venait jamais en contact avec le liquide. Le vase fut recouvert d'une plaque en verre, mais on eut soin d'interposer un morceau de liège entre la plaque et le vase, de manière à procurer de l'air aux matériaux d'étude. Ceux-ci, pendant plus d'une semaine, restèrent en contact avec la solution sucrée, à une température ordinaire et dans l'obscurité. Au début de l'expérience, je m'étais assuré que mes fragments de feuilles ne renfermaient point d'amidon. Après un séjour de huit jours sur la solution sucrée, ils donnaient la réaction de l'amidon. Si on veut les débarrasser complètement de leur chlorophylle pour rechercher l'amidon, les fragments de feuilles d'*Iris* doivent être traités assez longtemps par l'alcool chaud avant d'être plongés dans la dissolution d'iode.

16. L'influence des actions extérieures sur la formation d'amidon pendant l'assimilation.

Quelques graines de *Phaseolus* sont déposées dans un pot à fleurs

(1) Voy. Sachs, *Handbuch d. Experimentalphysiologie d. Pflanzen*, 1865, p. 326.
(2) Voy. Arth. Meyer, *Botan. Zeitung*, 1885, N° 27.
(3) Voy. Bœhm, *Botan. Zeitung*, 1863; A. Meyer, *Botan. Zeitung*, 1885, n° 27, et surtout *Botan. Zeitung*, 1886, n° 5.

contenant de la terre meuble de jardin, et on cultive les plantes qui proviennent de ces graines, jusqu'à ce que leurs cotylédons soient privés d'une partie considérable de leur provision de matières de réserves. On détermine ensuite par voie macrochimique, d'après la méthode de Sachs, ou par voie microchimique, le contenu en amidon de ces premières feuilles, en traitant des sections transversales minces par les solutions d'hydrate de chloral et d'iode ioduré (voy. § 14). Dans les cellules du mésophylle, on ne rencontre pas d'amidon. En soumettant maintenant les plantes pendant quelques jours à l'action de la lumière, on constate qu'elles verdissent. Leur croissance s'effectue de nouveau et, par voie macrochimique ou par voie microchimique, on pourra montrer la présence de l'amidon dans les cellules des feuilles par les procédés qui ont été indiqués.

En examinant par voie macrochimique ou par voie microchimique des feuilles complètement développées provenant de vigoureux exemplaires de *Tropæolum* ou de *Phaseolus*, cultivés en pots à la lumière, on constatera la présence de l'amidon dans leurs cellules. Si on place ensuite ces matériaux d'étude dans l'obscurité pendant peu de temps sous l'action d'une haute température estivale — 48 heures, peut-être? — ou pendant un temps plus long sous l'influence d'une température moindre, l'amidon aura disparu de leur mésophylle. Qu'on expose de nouveau les plantes pendant quelques jours à la lumière et les feuilles redeviendront riches en amidon, comme il sera facile de s'en assurer. Dans les recherches comparatives concernant l'influence qu'exercent les conditions d'éclairage sur la formation et la disparition de l'amidon dans les cellules des tissus foliaires, il convient, après l'expiration de chaque période de l'expérience, de ne point enlever aux plantes des feuilles tout entières, mais seulement des fragments. On parvient ainsi à expérimenter pendant toute la durée des recherches avec une seule et même feuille.

Lorsqu'on effectue des recherches sur le contenu amylifère des feuilles des bourgeons de vigoureuses plantes d'*Elodea canadensis*, vivant dans des conditions normales, on trouve dans les cellules des quantités considérables de cet hydrate de carbone. L'amidon disparaît complètement quand les matériaux d'étude sont portés dans l'obscurité (d'après mes recherches personnelles, cette disparition se fait déjà après 24 heures sous l'influence d'une haute température estivale, elle s'effectue évidemment d'une manière beaucoup plus lente si la température est moindre). Un nouvel éclairage détermine bientôt l'accumulation dans les tissus foliaires d'une grande quantité d'amidon. J'ai trouvé qu'il était préférable, avant de traiter des feuilles d'*Elodea* par les dissolutions d'hydrate de chloral et d'iode ioduré, d'extraire la chlorophylle par l'eau bouillante et l'alcool chaud.

Après un séjour d'un à trois jours dans l'obscurité et par une haute température estivale, les filaments de *Spirogyra* sont dépourvus de

leur amidon, comme nous le montre l'action simultanée de l'hydrate de chloral et de l'iode ioduré. Si on expose ces filaments de *Spirogyra*, débarrassés de leur amidon, à l'action de la lumière solaire directe, sous l'influence de la haute température et de l'intensité lumineuse considérable auxquelles ils sont soumis, ils ne tarderont pas à acquérir, parfois même au bout d'une demi-heure, une grande quantité d'amidon. Dans la lumière diffuse, cette production d'amidon se fait beaucoup plus lentement.

Pour étudier l'influence exercée par des lumières de réfrangibilités différentes sur la production d'amidon dans la chlorophylle, on emploie commodément, comme matériaux d'étude, des filaments de *Spirogyra* ou des *Elodeas* qu'on a fait séjourner pendant quelque temps dans l'obscurité pour les débarrasser de leur amidon. Ces plantes, dépourvues d'amidon, sont déposées, sous des cloches à double paroi ou sous des caisses spéciales (voy. § 8), dans de petits cristallisoirs contenant de l'eau, et soumises à l'action de la lumière qui a traversé la dissolution aqueuse de bichromate de potassium ou la dissolution ammoniacale d'oxyde de cuivre. On expose les appareils à l'action de la lumière solaire directe ou de la lumière diffuse. De temps à autre, à peu près toutes les dix minutes quand on expérimente à la lumière solaire directe, et à peu près toutes les trente minutes, à la lumière diffuse, on détermine le contenu amylifère des filaments de *Spirogyra* et des feuilles de bourgeons d'*Elodea*. On verra ainsi que la formation d'amidon s'effectue d'une manière plus intense sous l'influence des rayons de moindre réfrangibilité que sous l'action des rayons plus réfrangibles, le dégagement d'oxygène se fait de même plus vivement dans la lumière jaune que dans la lumière bleue. Sous l'influence de la lumière solaire directe, la production d'amidon dans la chlorophylle s'effectue, toutes les autres conditions égales, un peu plus rapidement que sous l'action de la lumière bleue. J'ai observé que des filaments de *Spirogyra* d'abord dépourvus d'amidon en contenaient des quantités considérables après trente-cinq minutes d'exposition, sous une haute température, à la lumière solaire qui avait traversé une dissolution d'oxyde de cuivre dans l'ammoniaque.

Il sera maintenant intéressant d'examiner, par la méthode macrochimique de Sachs, le contenu en amidon des feuilles panachées. Pour les expériences de ce genre, on emploie des feuilles d'*Acer negundo* ou de *Sanchezia* (ces dernières doivent séjourner assez longtemps dans la dissolution d'iode). On pourra ainsi s'assurer que les parties vertes des feuilles contiennent seules de l'amidon et qu'il n'en existe pas dans celles qui sont dépourvues de chlorophylle.

L'expérience qui va suivre, et que j'ai instituée avec des *Tropæolum majus* cultivés en pots, est particulièrement intéressante. Elle nous montre, en effet, que la production d'amidon est rigoureusement limitée au mésophylle des feuilles, que l'activité assimilatrice de ce tissu ne

se manifeste dans une feuille que dans les parties rencontrées directement par les rayons solaires, et qu'il ne se forme pas d'amidon dans celles qui sont maintenues artificiellement dans l'obscurité. Des *Tropæolum majus* sont placés dans l'ombre, pendant deux jours ou plus longtemps, jusqu'à ce qu'on puisse constater, par la méthode macroscopique, que le mésophylle foliaire s'est débarrassé de son amidon. On assujettit, au moyen d'épingles, de petits disques de carton épais ou de feutre exactement superposés sur les faces supérieures et inférieures de feuilles complètement développées, de manière que les matériaux d'étude, exposés de nouveau à la lumière ne reçoivent plus de radiations lumineuses que sur une partie de leur surface. Au bout de quelque temps (un jour et demi, dans mes expériences), on examine, par voie macroscopique, le contenu amylifère des feuilles dont certaines portions ont été plongées dans l'obscurité. Le mésophylle des régions foliaires plongées dans l'obscurité est dépourvu d'amidon; les nervures seules en possèdent. Les portions de la feuille rencontrées par les rayons lumineux se montrent, au contraire, très riches en amidon.

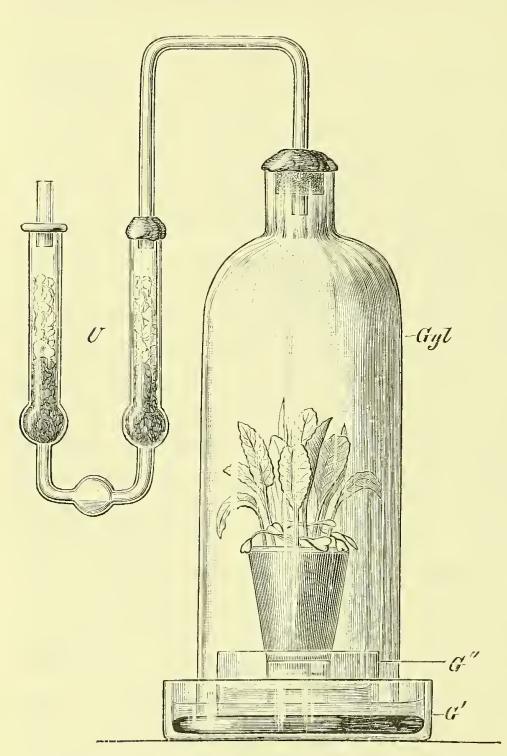


Fig. 15. — Appareil pour cultiver des plantes en l'absence d'acide carbonique.

Il sera très important de s'assurer ensuite que les plantes ne sont point en état de former de l'amidon, même en présence de la lumière, dans une atmosphère dépourvue d'acide carbonique et que, dans ces conditions, l'amidon qui pourrait exister dans les plantes, disparaît des corps chlorophylliens. On place quelques graines de *Raphanus* ou d'autres plantes dans des pots à fleurs contenant du sable stérilisé, que l'on arrose d'une solution nutritive ordinaire étendue. Lorsque, sous l'action de la lumière, la germination sera suffisamment avancée et que les cotylédons seront complètement développés, on placera les matériaux d'étude, dont les cotylédons renferment des quantités considérables d'amidon, comme il est facile de le montrer, sous l'appareil représenté par la fig. 15. Le cristallisoir G′ contient du mercure, sur lequel on verse

une légère couche d'eau. Au lieu de mercure, on peut n'employer que de l'eau. Dans le cristallisoir G'' se trouve une dissolution concentrée d'hydrate de potassium et un support en verre sur lequel se place le pot avec les plantes. La cloche en verre Ggl recouvre les germinations. Son bord inférieur plonge dans le mercure et dans l'eau. Un tube recourbé traverse l'ouverture du bouchon qui ferme le goulot de la cloche. Il est mis en communication avec un tube en U qui contient de l'hydrate de potassium en morceaux et de la pierre-ponce imbibée d'une dissolution d'hydrate de potassium. Si on expose l'appareil à la lumière, pendant deux jours environ, les cotylédons se débarrassent de leur amidon (il est bon que l'appareil reçoive, au moins périodiquement, l'action de la lumière solaire directe pendant ce temps). Si, maintenant, on en retire le pot contenant les plantes et qu'on place de nouveau l'appareil devant la fenêtre, il s'accumulera aussitôt des quantités considérables d'amidon dans les cellules vertes des cotylédons.

C'est en automne et en hiver, qu'on instituera de préférence les expériences qui montrent l'influence de la température sur la formation d'amidon dans la chlorophylle. On expose, dans deux chambres tournées vers la même direction du ciel, deux vases en verre, pourvus d'eau ordinaire, qui contiennent des *Elodeas* débarrassés de leur amidon par un séjour dans l'obscurité. Dans une des chambres, il règne une température d'environ 6° C., tandis que dans l'autre, la température atteint à peu près 20° C. On maintient constamment à 6° C. la température du premier vase, et à 20° C. celle de l'autre (au moyen de glace ou par l'addition d'eau chaude, suivant les nécessités). Si, de temps à autre (à peu près toutes les trente minutes), on examine le contenu amylifère des feuilles d'*Elodea*, on trouvera qu'il se forme plus rapidement de grandes quantités d'amidon sous de hautes températures que sous de basses, lorsque les conditions d'éclairage sont les mêmes.

II. FORMATION DES MATIÈRES ALBUMINOÏDES DANS LES PLANTES.

17. Mode de formation des matières organiques azotées dans les plantes.

Il importe beaucoup de fournir la preuve que les cellules végétales jouissent de la propriété de former des corps organiques azotés, des substances albuminoïdes, par exemple, aux dépens de composés organiques non azotés, comme le sucre, par exemple, et de matières inorganiques azotées. Les expériences que nous allons relater nous apprennent, en même temps, que la production de corps organiques azotés

dans les cellules des plantes est indépendante du phénomène de l'assimilation, qu'elle peut s'accomplir aussi dans les cellules dépourvues de chlorophylle, et en l'absence complète de lumière. Pour cette étude, nous emploierons la levure (*Sacharomyces cerevisiæ*).

Nous prenons trois ballons *a*, *b*, *c*, d'une capacité d'environ 200 c. c. Dans le premier *a*, nous plaçons 100 c. c. d'eau distillée; dans le second *b*, 100 c. c. de la solution nutritive de Pasteur (celle-ci est composée, sur 1000 parties en poids, de 838 p. d'eau, de 150 p. de sucre de raisin ou de sucre candi (1), de 10 p. d'acétate d'ammonium, de 0, 2 p. de sulfate de magnésium, de 0, 2 p. de phosphate de calcium et de 2 p. de phosphate acide de potassium); dans le troisième *c*, 100 c. c. d'un liquide composé de la même façon que la solution nutritive de Pasteur, mais ne contenant pas d'acétate d'ammonium. Nous ferons bouillir pendant quelque temps les liquides contenus dans ces ballons pour les stériliser le mieux possible, et, après avoir bouché le goulot de chaque ballon au moyen d'un tampon d'ouate, nous introduisons, après refroidissement et en n'enlevant qu'un moment le tampon d'ouate, une petite quantité de levure dans chaque liquide. Nous ferons usage de levure sèche. En l'examinant au microscope, on observe qu'elle contient, outre les petites cellules du ferment qui se colorent en jaune par l'action de l'iode, des grains d'amidon et d'autres corps étrangers. Pour obtenir des matériaux d'étude convenables, nous laverons la levure sèche sur un filtre au moyen d'eau distillée, afin d'en extraire les impuretés solubles, et, par des lavages répétés, nous chercherons à la rendre aussi pure que possible. Le liquide ainsi obtenu possède un aspect laiteux et ne contient qu'une quantité relativement minime de levure. Chacun des trois ballons en reçoit le même volume (un ou deux c. c.). Les ballons, munis de leur bouchon d'ouate, sont exposés ensuite à une température d'environ 26° C. Après les avoir fréquemment secoués, on laisse reposer les liquides à la lumière ou dans l'obscurité. Le liquide du ballon *b* ne tarde pas à devenir trouble : un très grand nombre de nouvelles cellules de levure ont pris naissance et se sont massées sur le fond du vase. Il ne se produit qu'un trouble léger ou très léger dans les vases *a* et *c*. Comme il est très difficile de débarrasser la levure sèche de tous les corps qui l'accompagnent, il peut se produire une très légère augmentation de levure dans les ballons *a* et *c*, mais, dans tous les cas, l'augmentation considérable de levure constatée dans le ballon *b*, et qui peut être déterminée exactement en pesant, avant et après l'expérience, la levure filtrée et desséchée, démontre que les conditions normales de vie du champignon se trouvaient réalisées dans ce vase. La reproduction cellulaire a été accompagnée de la formation de substances organiques

(1) Dans mes expériences, j'employais plus particulièrement ce dernier, parce qu'il est plus facile à se procurer à l'état pur que le sucre de raisin.

azotées, car les cellules nouvelles, qui n'avaient eu à leur disposition que des composés organiques non azotés et de l'ammoniaque, possèdent un protoplasme riche en matières organiques azotées.

Les plantes supérieures sont parfaitement en état d'utiliser l'acide nitrique pour la production de matières albuminoïdes. Examinons si les cellules de levure ne se trouvent pas dans le même cas. Lorsque nous portons des cellules de levure dans un liquide nutritif formé en remplaçant, dans la solution de Pasteur, l'acétate d'ammonium par du nitrate de potassium, nous observons que le champignon se comporte de la même manière que dans les liquides qui ne contenaient pas de corps azotés. On pourra également établir expérimentalement, en remplaçant dans la solution nutritive de Pasteur l'acétate d'ammonium par des peptones, que ces derniers constituent une source d'azote plus convenable que l'ammoniaque pour le champignon de la levure.

On démontre aisément que non seulement la levure, mais encore les autres organismes dépourvus de chlorophylle, possèdent la propriété de former des substances albuminoïdes aux dépens du sucre et de l'ammoniaque. On prend deux petits vases *a* et *b*. Dans le vase *a*, on verse 25 c. c. de la solution nutritive de Pasteur, et dans l'autre, 25 c. c. d'un liquide de même composition, à cela près qu'il ne contient pas d'acétate d'ammonium. Ces deux vases sont placés sous une cloche en verre et laissés en repos pendant environ huit jours. Le liquide du vase *a* devient bientôt trouble par suite du développement d'une quantité considérable de bactéries. D'autres organismes aussi peuvent y prendre naissance (dans mes expériences, j'ai rencontré, par exemple, un champignon coloré en rouge, le *Sacharomyces glutinis*). Le liquide du vase *b* n'était que légèrement trouble, parce qu'une source d'azote faisait défaut. Une faible manifestation vitale des germes existants peut cependant s'y produire; car le liquide pourrait se procurer dans l'atmosphère une petite quantité d'ammoniaque.

18. La plante peut-elle utiliser l'azote libre de l'atmosphère pour la production de matières albuminoïdes?

Les cellules végétales peuvent produire des substances albuminoïdes aux dépens de matières organiques non azotées et de composés inorganiques azotés (acide nitrique et ammoniaque). Examinons si l'azote libre de l'air peut être utilisé pour la formation de substances albuminoïdes. Cette question possède, outre un intérêt théorique, un intérêt pratique considérable, car s'il y était répondu dans le sens affirmatif, l'agriculteur, par exemple, n'aurait plus à donner d'aliments azotés à ses cultures.

Pour résoudre la question proposée, nous emploierons des plantules de pois ou de froment. On se procure des graines bien mûres et prêtes à germer, dont on détermine le contenu en matières sèches et en azote.

Quelques graines de froment (une trentaine) ou quelques graines de pois (une demi-douzaine), dont on a obtenu exactement le poids et dont le contenu azoté peut être facilement calculé en se servant des méthodes indiquées pour l'évaluation de la teneur en azote, sont déposés dans un petit vase en verre contenant un peu d'eau. Ce vase est ensuite laissé en repos pendant environ 24 heures sous la cloche en verre, dont nous avons déjà eu l'occasion de parler. Après ce laps de temps, on décante la petite quantité d'eau qui mouille encore les graines. On évapore ce liquide dans une capsule en porcelaine sur un bain-marie. Le résidu est mis dans un exsiccateur. Les graines, gonflées, seront ensuite placées sous l'appareil que représente la fig. 16, pour accomplir leur germination. Un gobelet en verre B, recouvert d'un morceau de papier de parchemin, percé d'un grand nombre de trous, ou d'un morceau de tulle, est placé sur une plaque en verre rodée. Il contient une solution nutritive dans laquelle se trouvent tous les aliments, sauf l'acide nitrique ou l'ammoniaque (voy. § 20). On dépose les graines gonflées sur le tulle ou le papier de parchemin, — on peut aussi employer un morceau de tôle argentée percé de nombreux orifices, — de manière que les racines, qui ne tarderont pas à se développer, soient plongées dans la solution nutritive. Une très grande cloche en verre G est mastiquée sur la plaque de verre rodée, ce qui se fait le mieux en étendant extérieurement autour de son bord inférieur une couche de graisse obtenue en fondant ensemble de la cire, du suif et de l'huile d'olives. On peut aussi fermer inférieurement la cloche au moyen de mercure contenu dans une grande cuvette. Il faudra dans ce cas verser sur le métal une petite quantité d'eau, afin que les vapeurs mercurielles ne puissent pas nuire aux germinations. Il est bon parfois aussi de ne point déposer directement les graines gonflées sur le morceau de tulle ou de papier de parchemin qui recouvre le vase, mais seulement les germinations obtenues dans la cloche sur de la laine de verre humide. La tubulure de la cloche en verre est fermée au moyen d'un bouchon en caoutchouc percé de deux orifices; l'une de ces ouvertures reçoit un tube recourbé à angle droit *a;* l'autre, un tube plus long *b* recourbé également à angle droit. Par le tube *a*, on procure aux matériaux d'étude de l'air

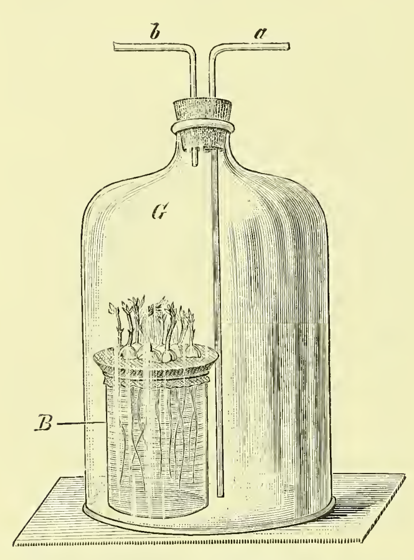


Fig. 16. — Appareil pour cultiver des plantes en l'absence de toute combinaison azotée.

atmosphérique débarrassé de ses composés azotés avant de pénétrer dans la cloche G, et à peu près saturé de vapeur d'eau. A cet effet, l'air, avant d'entrer dans le tube *a*, traversera une série de vases contenant : le premier, une solution de bicarbonate de sodium ; le second, de la pierre ponce imbibée d'acide sulfurique et le troisième, de l'eau. Le tube *b* est relié à un aspirateur. Il est bon d'intercaler entre eux un petit vase renfermant de l'acide sulfurique, afin que l'air qui se trouve sous la cloche ne soit pas en communication directe avec l'atmosphère. Si, dès que les graines commencent à gonfler, on dirige un courant d'air lent et continu dans l'appareil, et que l'on expose les plantes à une vive lumière diffuse, elles se développeront aussi bien qu'il leur est possible de le faire en l'absence d'acide nitrique et d'ammoniaque. Les expériences seront continuées pendant 14 jours et même plus longtemps, et, pendant tout ce laps de temps, on dirigera nuit et jour de l'air dans l'appareil. Il s'agira maintenant d'établir le contenu en azote des plantules de pois ou de froment. Les matériaux d'étude seront réduits en bouillie. On détermine le poids de la capsule et de la baguette de verre destinée à remuer la bouillie. La capsule est ensuite placée sur un bain-marie. Elle reçoit aussi le restant de la solution nutritive aux dépens de laquelle les racines se sont développées et dont le volume est beaucoup diminué par suite de l'évaporation, le restant de l'eau employée et celui de l'eau qui a servi à mouiller la laine de verre. Quand le contenu de la capsule aura été suffisamment desséché, on placera cette capsule pendant quelque temps dans une étuve où règne une température de 50° C., puis elle sera exposée à l'air, sans être couverte, pendant 24 heures. On détermine alors le poids de son contenu desséché à l'air, ce qui permet d'évaluer le poids de son contenu en matières sèches. On fera ensuite le dosage de l'azote. Si on compare le poids d'azote des graines employées avec celui des plantules, on trouvera, quand les expériences auront été bien conduites, que les différences que l'on obtient doivent provenir de petites erreurs dans les recherches. Dans les conditions indiquées, les plantes ne sont donc pas en état d'utiliser l'azote libre de l'air pour la formation de matières albuminoïdes (1). Récemment, Hellriegel a fait cette découverte excessivement importante que dans d'autres circonstances, notamment en collaboration avec les microorganismes, les papilionacées, plus particulièrement, possèdent la propriété d'utiliser l'azote libre pour leur nutrition. Les expériences qui démontrent ce fait, ne peuvent être effectuées qu'en tenant compte de détails nombreux ; c'est pourquoi, il y aura lieu de recommander à ceux qui veulent les répéter, de consulter le travail original de Hellriegel dans la « Zeitschrift für Zuckerindustrie. »

(1) Ce fait a été notamment démontré par Boussingault (voy. Comptes rendus, t. 39, p. 601).

Pour s'assurer que les plantes en germination, non seulement ne prennent pas de l'azote libre de l'air, mais subissent de plus une perte d'azote lorsqu'elles vivent dans l'obscurité, les expériences se feront de la manière décrite. Seulement, on veillera à ce que les matériaux d'étude ne soient pas rencontrés par des rayons lumineux (1).

19. La présence d'ammoniaque et d'acide nitrique dans l'eau ainsi que dans la plante.

Pour montrer l'existence dans la nature de composés inorganiques azotés (ammoniaque, acide nitrique) pouvant être employés par les végétaux pour leur nutrition, on recherchera la présence de ces deux corps dans différentes espèces d'eaux (eaux de rivière, d'étang, de puits). La recherche de l'ammoniaque se fera à l'aide du réactif de Nessler. Il se prépare en dissolvant 2 gr. d'iodure de potassium dans 5 c. c. d'eau et en ajoutant à chaud au liquide obtenu une quantité d'iodure de mercure quelque peu supérieure à celle qui peut être dissoute. Après refroidissement, la solution est étendue au moyen de 20 c. c. d'eau. On la filtre, puis on la mélange avec une solution de potasse caustique (à 20 c. c. du filtrat, on ajoute 30 c. c. d'une solution obtenue en dissolvant 1 p. d'hydrate de potassium dans 2 parties d'eau). On remplit ensuite deux tubes à réactions avec l'eau à examiner, mélangée avec une certaine quantité d'une lessive de soude caustique. On filtre si c'est nécessaire et, dans un des tubes, on laisse tomber environ 30 gouttes du réactif de Nessler. La comparaison des tons de coloration des liquides dans les deux tubes, indique s'il existe de l'ammoniaque dans l'eau examinée ou si elle n'en contient pas, car en présence de cette substance, l'eau mélangée au réactif de Nessler se colore en rouge. Pour montrer la présence d'acide nitrique dans l'eau, on dépose une goutte d'eau dans une capsule en porcelaine blanche avec deux gouttes d'une solution de brucine (obtenue en dissolvant de la brucine dans l'eau). On ajoute ensuite quelques gouttes d'acide sulfurique concentré. L'apparition d'une coloration rouge indiquera la présence d'acide nitrique dans l'eau examinée. Pour déceler l'existence de quantités excessivement minimes d'acide nitrique dans l'eau, on évapore quelques c. c. de l'eau à examiner, et on traite le résidu par la solution de brucine et l'acide sulfurique (2).

La présence d'acide nitrique dans l'eau s'aperçoit aisément aussi

(1) J'ai rassemblé les résultats que j'ai obtenus relativement à cette question, ainsi que les données fournies par les travaux d'autres auteurs, dans mon ouvrage intitulé : *Vergleichende Physiologie des Keimungsprocesses der Samen*, 1880.

(2) L'acide sulfurique doit évidemment être dépourvu d'acide nitrique et ne point se colorer en rouge avec la solution de brucine. On peut débarrasser l'acide sulfurique de l'acide nitrique qu'il pourrait contenir en le faisant bouillir après l'avoir additionné d'une petite quantité de soufre.

en faisant évaporer quelques c. c. de l'eau à examiner dans une capsule en porcelaine et en portant sur le résidu, à l'aide d'une baguette de verre, de la diphénylamine dissoute dans l'acide sulfurique (0, 05 gr. de diphénylamine dans 10 c. c. d'acide sulfurique concentré pur). L'acide nitrique produira une coloration bleue par suite de la formation de bleu d'aniline.

Le jus de betteraves est assez riche en nitrates. En traitant sur porte-objet des sections transversales minces de la racine de cette plante par la solution de diphénylamine dont il vient d'être question, on constatera l'apparition d'une couleur bleue intense. On pourra instituer une jolie expérience de cours pour montrer l'existence de nitrates dans les betteraves, en coupant transversalement une betterave et en touchant simplement la surface de section avec la solution de diphénylamine; la coloration bleue se montrera aussitôt.

20. De l'acide nitrique, comme aliment pour les plantes.

Dans le sol et dans l'eau, se rencontrent des sels de l'acide nitrique qui peuvent être employés comme aliments par les plantes supérieures. On peut montrer, au moyen de la méthode de culture dans l'eau, que les nitrates peuvent fournir l'azote nécessaire pour la formation de matières albuminoïdes par les végétaux, et permettre aux plantes de se développer normalement. Le maïs, l'avoine et le sarrasin pourront servir de matériaux d'étude (j'ai obtenu de très bons résultats en faisant usage de maïs). Les expériences étaient faites de la manière indiquée dans le § 1. Une ou plusieurs plantes se développaient, plongées dans une des solutions nutritives dont la composition est donnée p. 4 (*a*). Dans une solution nutritive (*b*), qui ne différait de la précédente que parce qu'elle renfermait 1 gr. de sulfate de potassium par litre au lieu de nitrate de potassium, se trouvaient d'autres plantes. Dans mes expériences, les plantes se développaient bien normalement dans la solution *a*; celles placées dans la solution *b* présentaient après quelques semaines un aspect très misérable (voy. fig. 17). Les feuilles inférieures se desséchaient et la croissance s'effectuait d'une manière excessivement lente. Les matières azotées de réserve constituaient la seule source d'azote de la graine, qui pouvait, tout au plus, tirer de l'atmosphère de petites quantités d'ammoniaque insuffisantes pour provoquer un développement luxuriant de l'organisme.

Il sera intéressant aussi de cultiver des plantes sur du sable quartzeux stérilisé par l'action du feu, lavé successivement par de l'acide chlorhydrique dilué et de l'eau, et arrosé, dans un cas, avec une solution nutritive complète, dans l'autre, avec une solution nutritive dépourvue d'acide nitrique. On verra bientôt quelle est la plante qui a été pourvue d'azote.

21. De l'ammoniaque, comme aliment pour les plantes.

On peut s'assurer que les plantes supérieures peuvent employer, pour la production de leurs substances albuminoïdes, les sels ammoniacaux qu'elles absorbent à l'aide de leurs racines. On cultive des



Fig. 17. — Plante de maïs développée à l'aide de la méthode de culture dans l'eau, en l'absence de toute combinaison azotée.

plantules de maïs ou d'autres plantes dans une solution nutritive composée de la même façon que celle qui est indiquée dans le § 1, mais qui renferme, au lieu de nitrate de calcium, 0,5 gr. de phosphate d'ammonium, $(NH^4)^2HPO^4$, et 0,5 gr. de sulfate de calcium. On doit particulièrement veiller à ce que la réaction légèrement acide de la solution nutritive ne subisse aucun changement appréciable pen-

dant le cours de l'expérience. Si on tient compte de cette observation, les matériaux d'étude prospèreront. On pourra évidemment se demander si, dans la plante, l'ammoniaque n'est pas transformée en acide nitrique par oxydation avant d'être utilisée pour la formation de matières albuminoïdes. Mais cette expérience nous apprend néanmoins que l'ammoniaque constitue un aliment pour les plantes supérieures (1).

22. L'endroit où s'effectue la production d'albumine dans les plantes supérieures.

L'assimilation engendre dans les feuilles des quantités considérables d'hydrates de carbone. Le courant dû à la transpiration conduit aussi des nitrates aux feuilles. On doit par conséquent supposer que la formation des substances albuminoïdes s'effectue dans ces organes. Les matières albuminoïdes peuvent être produites, il est vrai, tout aussi bien dans les cellules vertes que dans les cellules dépourvues de chlorophylle, mais le résultat de l'expérience qui va suivre, nous porte à admettre que certains tissus foliaires jouent un rôle particulièrement important dans la production des matières protéiques.

Nous pratiquons des sections transversales dans un foliole complètement développé de *Trifolium pratense* (voy. fig. 2, p. 9). En partant de l'épiderme supérieur, nous rencontrons d'abord les cellules du parenchyme palissadique disposées sur une seule rangée, puis le parenchyme lacuneux formé par plusieurs rangées d'éléments. On aperçoit aisément le liber et le bois des faisceaux libéro-ligneux. Le liber mou est entouré extérieurement de fibres libériennes, et le bois est recouvert également vers l'extérieur de fibres sclérenchymateuses fortement épaissies. Sur la face externe du revêtement de fibres libériennes et sur la face externe de la couche de cellules à parois épaissies qui encadrent les éléments ligneux, se trouve une rangée de cellules sans chlorophylle renfermant des cristaux d'oxalate de calcium. Les gaînes cristalligènes ne recouvrent que la partie antérieure et la partie postérieure des faisceaux; elles ne s'étendent pas latéralement (2).

Dans certaines conditions, qui se trouvent réalisées dans les plantes, les nitrates (et aussi les sulfates) peuvent être décomposés par l'acide oxalique, comme nous le verrons dans le § 23. Cet acide se rencontre très fréquemment dans les cellules végétales. Il en résulte que les cristaux d'oxalate de calcium dont nous venons de signaler l'existence, peuvent être considérés comme un produit de la réaction indiquée. Les acides nitrique et sulfurique peuvent être utilisés pour la formation des matières albuminoïdes avec les matières organiques non azotées produites par le protoplasme dans les cellules vertes des feuilles, et il est vraisemblable que cette production albuminique s'effectue dans

(1) Voy. G. Kühn et Hampe, *Versuchsstationen*, 1867.
(2) Voy. H. de Vries, *Landwirthsch. Jahrbücher*, vol. 6, p. 900 et pl. 44, fig. 3.

les éléments du liber mou, car ces derniers sont très riches en substances albuminoïdes (1). Nous reviendrons sur ce sujet dans la troisième partie de cet ouvrage, quand nous aurons à nous occuper de la signification des tubes cribreux.

23. La décomposition des nitrates dans les plantes.

On a déjà montré (voy. § 22) que l'acide nitrique nécessaire pour la production d'albumine est mis en liberté par l'action des acides végétaux, et notamment de l'acide oxalique, sur les nitrates, en même temps qu'il se forme des sels de ces acides. Ces réactions sont particulièrement importantes, parce qu'elles débarrassent les sucs végétaux d'un excès de sels calcaires. L'oxalate de calcium, combinaison très difficilement soluble, se rencontre, en effet, très fréquemment sous forme de cristaux dans les plantes.

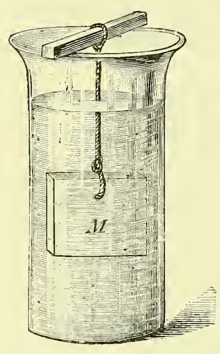


Fig. 18. — Appareil pour montrer l'action de l'acide oxalique sur les nitrates.

L'action de l'acide oxalique sur la chaux ou sur les sels de potassium ne peut se produire chez les plantes que dans des solutions très étendues. Il sera donc intéressant de chercher à résoudre la question de savoir si cette réaction pourra encore s'effectuer en présence de très grandes quantités d'eau (2).

On prend un certain nombre de vases en verre contenant une solution qui renferme 0,205 gr. (1 équiv.) de nitrate de calcium sur 400 c. c. d'eau, et on prépare ensuite d'autres solutions composées chacune de 0,090 gr. d'acide oxalique dépourvu d'eau sur 100 c. c. d'eau. Si on mélange maintenant les 400 c. c. de chaque solution de nitrate de calcium avec les 100 c. c. de chaque solution d'acide oxalique, il se formera, à la température ordinaire, un précipité d'oxalate de calcium, et l'acide nitrique sera mis en liberté. Le temps n'est pas sans exercer de l'influence sur le produit de la réaction. Si, en certains cas, tout l'oxalate de calcium se précipite immédiatement; dans d'autres, la précipitation n'a lieu qu'au bout de 1, 2 ou 3 jours. Le précipité d'oxalate de calcium est d'autant plus abondant que l'acide oxalique a réagi plus longtemps avec le sel de calcium. Pour doser l'oxalate de calcium formé, on le transforme en sulfate de la manière connue.

La méthode qui va suivre permet de montrer qu'il y a mise en liberté d'acide nitrique, lorsque l'acide oxalique réagit avec le nitrate de potassium. On se procure 5 vases en verre (*a*, *b*, *c*, *d* et *e*) contenant

(1) Voy. Sachs, *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie*, 1882, p. 392.
(2) Voy. pour les détails concernant la décomposition des nitrates : Emmerling, *Versuchsstationen*, vol. 17 et 30.

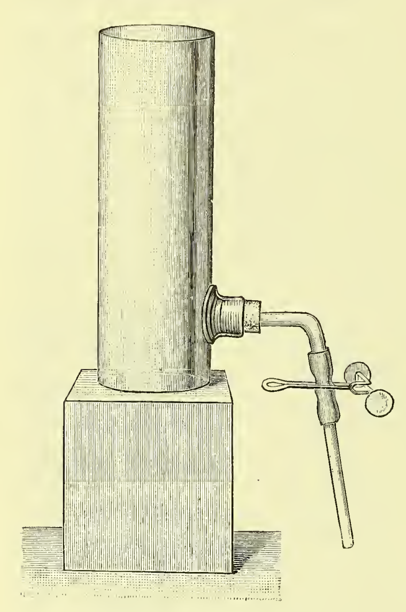
chacun 500 c. c. d'eau. Le vase *a* reçoit en outre 0,210 gr. d'acide nitrique ($H\ NO^3$); *b*, 3,000 gr. d'acide oxalique (dépourvu d'eau); *c*, 0,337 gr. de nitrate de potassium; *d*, 0,210 gr. d'acide nitrique et 3,000 gr. d'acide oxalique; *e*, 0,337 gr. de nitrate de potassium et 3,000 gr. d'acide oxalique. On suspend dans ces liquides de petites plaques de marbre (fig. 18, M) possédant, autant que possible, la même dimension (40 mm. de longueur et de largeur sur 5 mm. d'épaisseur). Les fils de soutien sont attachés à des baguettes qui reposent sur le bord supérieur des vases. Les liquides sont ensuite abandonnés à eux-mêmes. Celui qui est contenu dans le vase *a* ne devient point trouble. Il en est de même de celui que renferme le vase *b*. Dans ces deux vases, la plaque de marbre s'est recouverte d'une croûte d'oxalate de calcium qui arrête l'action de l'acide oxalique. Le liquide du vase *c* demeure clair également, mais dans le liquide des vases *d* et *e* il y a production d'un abondant précipité d'oxalate de calcium. L'acide nitrique réagit avec le marbre dans le vase *d*. Il se forme du nitrate de calcium qui est décomposé par l'acide oxalique. Il y a alors précipitation d'oxalate de calcium et mise en liberté d'acide nitrique qui réagit à son tour avec le marbre. On constate l'existence dans le vase *e* d'un précipité considérable. On peut l'attribuer à ce fait que le nitrate de potassium, sous l'influence de l'acide oxalique, met en liberté de l'acide nitrique, qui se conduit ici de la même façon que dans le vase *d*. Ces réactions s'effectuent d'une façon très énergique. J'ai pu m'assurer qu'on obtenait déjà après une demi-heure, un important précipité d'oxalate de calcium. Cette méthode permettra donc d'instituer aisément des expériences de cours pour démontrer que l'acide oxalique peut décomposer le nitrate de potassium.

III. LES ÉLÉMENTS CONSTITUANTS DES CENDRES VÉGÉTALES.

24. L'analyse mécanique du sol.

Il est très important pour la détermination de la nature d'un terrain de rechercher exactement son contenu en éléments fins et grossiers. On a d'ailleurs depuis longtemps établi une distinction entre le squelette du sol et la terre fine. Celle-ci attirera plus spécialement notre attention. Les propriétés les plus importantes du sol lui sont dévolues et elle fournit en première ligne à la plante les matières minérales qui lui sont nécessaires pour sa nutrition. Pour se procurer de la terre fine pouvant servir à l'analyse chimique du sol, on porte de la terre desséchée à l'air dans un tamis dont les mailles ont une largeur de 0,3 mm. Il suffira de le secouer pour séparer la terre fine. S'il s'agit de déterminer

le contenu en terre fine d'un terrain, on place dans une capsule 50 gr. de terre desséchée à l'air que l'on arrose d'eau; puis, après quelque temps, ce mélange est jeté sur un tamis qu'on lave à l'aide d'un pinceau de soies sous un mince filet d'eau. Le résidu du tamisage (squelette) est desséché et pesé. On distingue dans le squelette quatre parties : le sable, le gravier fin, le gravier moyen et le gravier grossier, que l'on sépare au moyen de différents tamis. Le gravier grossier s'obtient, d'après la méthode de tamisage de Knop, en faisant usage d'un tamis dont la largeur des mailles est de 4,2 m.; pour le gravier moyen, cette largeur est de 2,7 mm. et pour le gravier fin, de 0,9 mm.


Fig. 19. — Cylindre laveur.

La terre fine est débarrassée par lavage du sable fin et des parties argileuses qu'elle contient; ce qui s'effectue au moyen du cylindre laveur de Kühn (fig. 19). Le vase cylindrique a une longueur de 28 centimètres et un diamètre de 8,5 centimètres (ces deux mesures sont prises à l'intérieur du vase). A 5 centim. au-dessus du fond du cylindre, se trouve une tubulure fermée de la manière représentée par la figure. On porte 30 gr. de terre fine et de l'eau dans ce cylindre laveur. On remue cette terre à l'aide d'une baguette, puis on laisse reposer pendant 10 minutes. Le liquide trouble est soutiré, une nouvelle quantité d'eau est portée dans le cylindre, remuée, et, après 5 minutes, de nouveau écartée. Ces opérations sont renouvelées jusqu'à ce que toutes les parties argileuses soient lavées. Le résidu du cylindre (sable fin) est desséché, et son poids, déterminé (1). La terre fine est constituée, comme l'analyse par lavage entr'autres l'enseigne, par des particules de différentes grosseurs de grains: ce dont il est facile de s'assurer par l'examen microscopique d'une petite quantité de terre fine déposée sur un porte-objet.

25. La présence dans le sol de quelques aliments pour les végétaux.

Il n'y a pas lieu, à mon avis, de donner dans un ouvrage comme celui-ci des instructions détaillées sur l'examen chimique du sol. Celui

(1) On trouvera dans mon *Lehrbuch der Bodenkunde*, 1876, des renseignements sur la fonction de la terre fine et du squelette du sol, ainsi que sur la méthode à employer dans l'analyse mécanique du sol.

qui voudra entreprendre des recherches de ce genre et être fixé exactement sur la valeur des résultats obtenus, devra étudier les travaux de E. v. Wolff (1), de Knop (2), ainsi que mon *Bodenkunde* (3). Il suffira donc ici de fournir la preuve que le sol contient certains aliments pour les plantes, et nous emploierons, comme objet d'expérimentation, de la terre fine retirée du sol par le procédé indiqué dans le § 24.

Pour constater l'existence du chlore dans le sol, on laisse pendant quelque temps 5 gr. de terre fine dans 200 c. c. d'eau. Puis on filtre, et on montre la présence du chlore dans le filtrat de la manière ordinaire, c'est-à-dire au moyen du nitrate d'argent.

On utilise, pour prouver l'existence de l'acide sulfurique dans le sol, 2 ou 5 gr. de terre fine que l'on mélange avec 20 à 50 gr. de carbonate de sodium ne renfermant point d'acide sulfurique. On verse de l'eau sur ce mélanges qui est porté dans une capsule en porcelaine, et on fait bouillir pendant quelque temps. Dans le liquide obtenu, il sera aisé de montrer qualitativement et quantitativement la présence de l'acide sulfurique.

On verse de l'eau sur environ 10 gr. de terre fine, on agite le mélange tout en y versant de l'acide chlorhydrique jusqu'à ce que le dégagement d'acide carbonique ait cessé. Au bout de quelque temps, on filtre ce liquide qui est légèrement acide, on le neutralise approximativement avec de l'ammoniaque et on le décompose, sous l'action d'une chaleur modérée, par l'acétate de sodium. Il se forme alors un précipité composé essentiellement d'oxyde de fer. Le filtrat séparé de ce précipité laisse facilement apercevoir la présence de calcium par l'addition d'oxalate d'ammonium. Il faudra recourir aux ouvrages cités plus haut pour la description détaillée du procédé assez compliqué qui est employé pour constater la présence d'autres éléments, notamment du potassium et de l'acide phosphorique.

26. Les aliments pour les plantes contenus dans l'eau.

Il sera intéressant de montrer la présence dans l'eau de quelques corps qui constituent des aliments importants pour les végétaux. Nous emploierons, dans ce but, de l'eau de rivière, d'étang ou de source. A 20 c. c. d'eau acidulée au moyen de quelques gouttes d'acide chlorhydrique, on ajoute une solution de chlorure de baryum. La présence de l'acide sulfurique sera décelée par l'apparition d'un trouble ou d'un précipité. Si, après avoir ajouté une solution de nitrate d'argent à 20 c. c. d'eau, acidulée au moyen d'acide nitrique pur, on observe l'existence d'un précipité blanc, caséeux, soluble dans l'ammoniaque, c'est que

(1) Voy. E. v. Wolff, *Anleitung zur chem. Untersuchung. landwirthschaft. wichtiger Stoffe*, 1875.
(2) Voy. Knop, *Die Bonitirung der Ackererde*, 1871.
(3) Voy. Detmer, *Lehrbuch der Bodenkunde*, 1876.

l'eau renfermait du chlore. On acidule, au moyen d'acide chlorhydrique, 50 c. c. d'eau que l'on mélange avec de l'ammoniaque en excès et de l'oxalate d'ammonium. Un précipité blanc indiquera la présence de calcium. Le calcium se rencontre dans l'eau en combinaison soit avec l'acide sulfurique, soit avec l'acide carbonique (bicarbonate de calcium). L'existence de ce dernier corps peut être montrée en faisant évaporer de l'eau fraîche, car lorsqu'il est chauffé à une haute température, il se transforme en carbonate neutre qui se précipite et produit un trouble dans le liquide. En laissant reposer dans un petit vase, pendant quelque temps et à la température ordinaire, de l'eau assez riche en bicarbonate de calcium, il y aura formation de carbonate neutre en cristaux dont on pourra examiner la forme au microscope.

Nous n'avons eu ici pour but que de montrer l'existence générale dans l'eau d'aliments pour les plantes et non point de donner une méthode d'analyse de l'eau. Nous nous abstiendrons par conséquent de parler des autres substances contenues dans l'eau. En un autre endroit, nous avons d'ailleurs déjà indiqué comment on pouvait, dans une analyse d'eau, déterminer la teneur en ammoniaque et en acide nitrique.

27. L'analyse des cendres.

Quoique les analyses qualitatives et quantitatives de cendres soient assez compliquées et absorbantes, j'engage vivement ceux qui veulent s'occuper d'études physiologiques à entreprendre ce genre de recherches. Les matériaux d'étude devront être d'abord nettoyés avec soin, débarrassés, par exemple, de la poussière qui y adhère. Les racines fraîches seront alors découpées en rondelles que l'on enfile et que l'on suspend pour sécher, avec les feuilles et les tiges, dans une étuve chauffée à une température d'environ 50° C. Les racines seront réduites, après dessiccation, en une poudre assez grossière; les tiges et les feuilles séchées, découpées avec des ciseaux. Les graines desséchées à l'air seront broyées dans un mortier en une poudre grossière.

Proposons-nous, par exemple, de rechercher les éléments constituants des cendres fournies par les organes aériens du trèfle. Une grande quantité de plantes seront desséchées dans une étuve, découpées, et les morceaux, parfaitement mêlés. On en utilise environ 100 gr. pour l'extraction des cendres. La combustion se fait le mieux dans une grande capsule en platine; à défaut de pareille capsule, on pourra en employer une en porcelaine. Il faut veiller avec soin à ce que la chaleur ne soit pas trop intense, même pendant la combustion, qui s'effectue sous la flamme libre d'une lampe. Les cendres ne doivent jamais entrer en ignition. L'analyse des cendres se fera d'après la méthode de E. v.

(1) On trouvera des données exactes sur la méthode à employer pour l'analyse de l'eau dans : Tiemann, *Anleitung zur Untersuchung von Wasser,* 1874, et Reichardt, *Grundlagen zur Beurtheilung des Trinkwassers*, 1880.

Wolff (1), de l'efficacité de laquelle j'ai pu me convaincre à maintes reprises. Un gr. de cendres brutes servira au dosage de l'acide carbonique, ce que l'on peut faire d'une manière convenable au moyen de l'appareil de Dietrich (2), par exemple. Un autre gr. de cendres brutes sera traité par l'acide nitrique dilué, de manière à permettre le dosage du chlore dans la solution obtenue. Trois ou quatre gr. de ces mêmes cendres brutes seront ensuite déposés dans un ballon, et mouillés avec de l'acide sulfurique. On versera alors de l'acide chlorhydrique concentré sur ces cendres et on laissera digérer pendant quelque temps en provoquant un commencement d'ébullition. Tout le contenu du ballon sera versé alors dans une capsule en porcelaine et évaporé à siccité. Après un long séjour dans l'étuve, le résidu de l'évaporation sera mouillé avec de l'acide chlorhydrique concentré et repris par de l'eau. La partie insoluble (anhydride silicique, sable, charbon) sera recueillie sur un filtre dont le poids est connu, lavé soigneusement à l'eau chaude et pesé après dessiccation. Le contenu du filtre est porté dans une capsule de platine. Après l'avoir additionné d'une solution aqueuse de soude, on le fait bouillir plusieurs fois avec une solution concentrée de carbonate de sodium. Le liquide obtenu est filtré au moyen du filtre qui vient d'être employé, afin de déterminer par calcination le contenu en sable et en charbon du résidu convenablement lavé. La solution alcaline sert au dosage de l'anhydride silicique. Elle sera saturée par l'acide chlorhydrique, puis évaporée à siccité. Le résidu, additionné d'eau acidulée, sera porté à l'ébullition et on dosera l'anhydride silicique précipité.

Le liquide séparé par filtration du résidu d'anhydride silicique, de sable et de charbon, sera dilué jusqu'à un volume déterminé, 500 c. c. par exemple, et divisé par pesée en deux portions. Dans l'une, on dosera l'acide sulfurique, en précipitant à l'aide de chlorure de baryum du sulfate insoluble. Le filtrat sera alors traité à une chaleur modérée par l'ammoniaque, le carbonate et l'oxalate d'ammonium. Il y aura formation d'un précipité. Le nouveau filtrat est évaporé à siccité et le résidu, légèrement calciné, est chauffé avec de l'acide oxalique. Le résidu de la calcination est repris par de l'eau et la solution obtenue est traitée par l'acide chlorhydrique après filtration. On évapore de nouveau la solution ; on calcine légèrement le résidu et on détermine le poids du chlorure alcalin obtenu. On sépare le potassium du sodium de la manière ordinaire, c'est-à-dire au moyen du chlorure de platine. La seconde portion de la solution sera alors saturée approximativement par l'ammoniaque et traitée ensuite par l'acétate d'ammonium, afin de précipiter, sous l'action d'une chaleur modérée,

(1) Voy. E. v. Wolff, *Anleitung zur chem. Untersuchung landwirthschl. wichtiger Stoffe*, 1875, p. 159.

(2) Voy. Dietrich, *Zeitschrifter f. analytische chemie*, vol. 3 et 4. On peut se procurer l'appareil de Dietrich à la maison J. H. Buchler, à Breslau.

du phosphate ferrique, pour calculer la teneur en acide phosphorique et en oxyde de fer d'après la formule $Fe^2 (PO^4)^2$. Le filtrat, additionné d'oxalate d'ammonium, est chauffé et le calcium se précipite. Le filtrat sera ensuite fortement saturé d'ammoniaque. Après un repos de 24 heures, le phosphate ammoniaco-magnésien est précipité. On le recueille sur un filtre, et, d'après son poids, il sera possible de calculer la teneur en acide phosphorique et en magnésium. Le filtrat serait traité par la mixture de magnésium, s'il contenait encore de l'acide phosphorique, ou par le phosphate de sodium s'il renfermait encore du magnésium.

En comparant les résultats fournis par les analyses quantitatives de cendres, on indiquera le contenu des matières végétales sèches en cendres brutes et en cendres pures (cendres brutes — acide carbonique, sable et charbon). On calculera aussi la composition centésimale des cendres.

28. La nécessité, pour les plantes supérieures, de substances minérales et la superfluité du sodium et du silicium.

La manière la plus simple et la plus certaine de résoudre les questions qui vont nous occuper, consiste à faire usage de la méthode de culture dans l'eau; méthode qui a été décrite dans le § 1. Nous cultiverons des plantes de maïs, par exemple, dans une solution nutritive complète d'après le procédé indiqué. Cette solution contient du nitrate de calcium, du chlorure de potassium, du sulfate de magnésium, du phosphate de potassium et une légère quantité de chlorure de fer. Nous chercherons, en même temps, à cultiver une plante de maïs dont la germination s'est effectuée dans la sciure humide, en ne donnant à ses racines que de l'eau distillée. La végétation de cette dernière plante sera bientôt arrêtée. Au contraire, les matériaux d'étude dont les racines sont plongées dans une solution nutritive complète, continueront à croître vigoureusement. Dans mes expériences, la plante de maïs qui n'avait que de l'eau à sa disposition, ne parvenait pas à former plus de quatre feuilles. On voit par là, que les substances minérales sont indispensables pour le développement normal des végétaux. Quand les matières de réserve des graines peuvent être utilisées, la croissance des plantes dont les racines plongent dans l'eau peut encore s'effectuer, mais d'une manière lente.

Comme la solution nutritive employée ne contenait ni sodium, ni silicium, l'expérience que nous avons entreprise nous apprend donc aussi que le sodium et le silicium ne sont point des éléments indispensables aux plantes. Il se pourrait cependant que le silicium soit absolument nécessaire à certains végétaux, aux diatomées, par exemple : algues microscopiques de couleur brune, que l'on rencontre souvent sur les pierres et les végétaux plongés dans l'eau, et dont les membranes

sont fortement imprégnées d'anhydride silicique. Le silicium est certainement superflu aux graminées, mais il leur est peut-être utile? Il doit en être de même pour les équisétacées. La quantité de silicium qui imprègne les membranes des cellules épidermiques de ces dernières plantes, est, dans tous les cas, très importante, comme on pourra le constater de la manière suivante.

En examinant des lambeaux d'épiderme de la tige d'*Equisetum arvense*, on remarque une alternance de raies à stomates et de raies sans stomates. Celles-ci sont colorées en vert par suite de la présence de chlorophylle, les autres sont incolores. Les cellules épidermiques sont étirées longitudinalement et la structure de l'appareil stomatique est compliquée. Ce fragment d'épiderme est déposé ensuite sur une mince plaque de mica, recouvert d'acide sulfurique concentré et porté à l'incandescence dans la flamme à gaz ou à alcool. La lame de mica est placée, avec les cendres, sur un porte-objet et, après addition d'une goutte d'eau, on met une lamelle sur la préparation. L'examen au microscope laissera apercevoir un squelette siliceux montrant encore un grand nombre des détails de structure que la préparation présentait auparavant.

29. Nécessité absolue de phosphore, de potassium et de fer pour les plantes supérieures.

On cultive des plantes, du maïs par exemple, par la méthode de culture dans l'eau et par le procédé indiqué dans le § 1. La composition de la solution nutritive complète est quelque peu modifiée. Elle contiendra par litre, abstraction faite d'une petite quantité de chlorure de fer : 1 gr. de $Ca(NO^3)^2$; 0, 5 gr. de KCl ; 0, 5 gr. de $Mg SO^4$ et 0, 5 gr. de $Ca^3 (PO^4)^2$ finement pulvérisé. Cette dernière substance se dissout difficilement dans l'eau et formera un dépôt dans les vases de culture. On prépare ensuite une solution ne renfermant point de potassium, en remplaçant le KCl de la solution nutritive complète par 0, 5 gr. de NaCl, et une solution dépourvue de phosphore en remplaçant le $Ca^3 (PO^4)^2$ par 0, 5 gr. de $Ca SO^4$. Il suffira de négliger d'ajouter du chlorure de fer à la solution nutritive complète, pour avoir une solution ne contenant point de fer. Les vases de culture, après avoir reçu leurs plantes de maïs, seront exposés aux mêmes influences extérieures. On observe que le maïs prospère à merveille dans la solution nutritive complète, et que les plantes cessent de croître dans les solutions où le potassium et le phosphore manquent, dès que la petite provision de potassium et d'acide phosphorique qui se trouvait dans la graine est épuisée. Le potassium et le phosphore sont par conséquent des aliments indispensables pour les végétaux. L'expérience faite avec la solution dépourvue de potassium nous apprend, en outre, que le potassium ne peut être remplacé par le sodium (qui lui est si

proche parent au point de vue chimique), dans le phénomène de la nutrition chez les plantes supérieures.

Dans les solutions nutritives sans fer, les plantes produisent d'abord des feuilles vertes normales. Mais bientôt surgissent des symptômes de maladie. Les matériaux d'étude, quand la réserve en fer des graines est épuisée, deviennent notamment panachés et chlorotiques. Les feuilles qui se développent alors ne sont plus vertes, mais blanches, et en les examinant au microscope, on remarque qu'il n'existe plus de grains de chlorophylle dans leurs cellules. Si nous ajoutons quelques gouttes d'une solution étendue de chlorure de fer à la solution nutritive, les feuilles primitivement blanches verdissent en 2 ou 3 jours et la croissance des plantes s'accomplit normalement (1).

30. La nécessité de substances minérales pour les champignons.

Le développement des champignons, comme celui des plantes supérieures, est subordonné à la présence d'éléments minéraux assimilables. Pour démontrer cette proposition, nous instituerons des expériences de culture avec le champignon de la levure, le *Sacharomyces cerevisiae*.

Nous préparerons une grande quantité d'un liquide formé en dissolvant, dans 84 p. d'eau, 15 p. de sucre candi très pur et 1 p. d'acétate d'ammonium. On verse dans un certain nombre de ballons 100 c. c. de ce liquide. Le contenu du ballon *a* n'est pas additionné de substances minérales. Le ballon *b* reçoit : 0, 2 p. de $KH^2 PO^4$, 0, 02 p. de $Ca^3 (PO^4)^2$ et 0, 02 p. de $Mg SO^4$; le ballon *c :* 0, 02 p. de $Ca^3 (PO^4)^2$ et 0, 02 p. de $Mg SO^4$; le ballon *d :* 0,2 p. de $Na^2 HPO^4$, 0, 02 p. de $Ca^3 (PO^4)^2$ et 0,02 p. de $Mg SO^4$. Les cols des ballons seront bouchés avec de l'ouate; les liquides, portés à l'ébullition, puis refroidis. On lave le mieux possible de la levure sèche et on verse dans chaque ballon 1 c. c. du liquide un peu laiteux obtenu. Le mieux sera d'abandonner ensuite les quatre ballons dans un thermostat à une température de 25-30°C.

Il se produit alors dans le ballon *b* une vive fermentation et une augmentation de levure, que l'on peut évaluer quantitativement en recueillant la levure produite sur un filtre sec et taré. Un léger trouble dans les liquides des ballons *a*, *c* et *d* (déterminé par le développement du ferment ou des bactéries) indiquerait la présence d'une petite quantité de matières minérales, c'est-à-dire de potassium, qui se trouverait vraisemblablement dans le sucre ou dans l'eau de levure. Dans tous les cas, la levure ne peut se développer normalement en l'absence de substances minérales dans la solution nutritive. Les expériences que nous venons d'instituer nous prouvent, en outre, qu'il ne peut se produire de végétation luxuriante de la levure ni de fermentation, quand on ne lui

(1) J'ai donné dans mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie* la liste des ouvrages concernant ce sujet.

fournit point du potassium et que celui-ci ne peut être remplacé par le sodium (1).

IV. DES COMBINAISONS ORGANIQUES, COMME ALIMENTS POUR LES VÉGÉTAUX.

31. Les corps humiques du sol.

Il se forme dans le sol, par suite de la putréfaction et de la décomposition des plantes et des animaux, toute une série de combinaisons organiques que l'on désigne sous le nom de corps humiques. Il n'est pas impossible que certaines plantes vertes (les espèces qui vivent, par exemple, dans les marécages) ne puissent, au moins partiellement, pourvoir à leurs besoins de substances organiques aux dépens des matières humiques, mais ces dernières jouent certainement un rôle important dans la nutrition d'un grand nombre de champignons (agarics, bolets, etc.). Nous aurons donc à faire plus ample connaissance avec les corps humiques du sol. Ils existent dans presque chaque espèce de terrain, mais évidemment en quantités très variables. Les terrains tourbeux sont particulièrement riches en humus. Ce sont par conséquent ceux-là que nous choisirons comme objet de notre étude.

Nous triturerons de la tourbe additionnée d'eau dans une capsule en porcelaine et nous ajouterons à ce mélange une lessive de potasse. Le liquide deviendra brun, puis noir. Il contient en dissolution un humiate de potassium. Ce liquide pourra être séparé par filtration du résidu laissé par la tourbe. Ce résidu ne peut plus nous servir : il est constitué par une masse de restes végétaux qui ne sont pas encore complètement transformés en humus, ce qui ne permet pas l'extraction de l'acide humique au moyen de la potasse, et par un corps humique insoluble, l'humine. La solution d'humiate de potassium est mélangée avec de l'acide chlorhydrique jusqu'à ce que le liquide présente une réaction nettement acide. L'acide humique sera ainsi mis en liberté et le liquide contiendra encore en dissolution certaines autres substances humiques en petites quantités (les acides crénique et apocrénique). Si, après avoir recueilli sur un filtre cet acide humique, on le lave convenablement et on le dessèche, on aura une masse noire, sèche et cassante, presque insoluble dans l'eau. On obtiendra une quantité plus grande de cette substance dans le dissolvant, en traitant de nouveau par de l'eau l'acide humique du filtre. Cette solution d'acide humique a une couleur jaune-brun. L'acide humique se dissout dans l'ammo-

(1) Voy. pour plus de détails sur la nécessité de substances minérales pour le champignon de la levure : A. Mayer, *Lehrbuch d. Gährungschemie*, 1874, p. 121.

niaque pour former l'humiate d'ammonium. Cette solution mélangée avec du chlorure de calcium précipite un sel double, produit par l'union de l'humiate de calcium avec l'humiate d'ammonium, qui se produit vraisemblablement aussi dans la nature. Le sol contient probablement toute une série d'autres corps humiques sur lesquels on ne connaît rien de positif (1).

32. Expériences sur le Penicillium crustaceum.

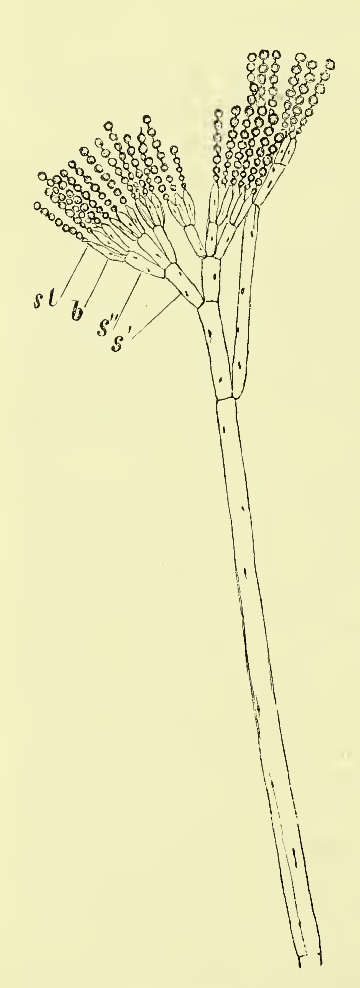


Fig. 20. — *Penicillium crustaceum.* Filament sporifère avec plusieurs verticilles de rameaux (*s'* et *s''*); *b*, basides; *st*, stérigmates et spores (d'après Strasburger). Gros. 540.

Quand on abandonne, à la température ordinaire, une tranche de pain imbibée d'eau dans un cristallisoir recouvert d'une cloche en verre, quelques petites espèces de *Mucor* ne tardent ordinairement pas à se développer à la surface supérieure du substratum. Mais, bientôt, cette surface prend une coloration verdâtre par suite de l'apparition en grande quantité du *Penicillium crustaceum.* Le mycelium de ce champignon ainsi que ses filaments sporifères, ramifiés en forme de pinceau, sont faciles à reconnaître au microscope (voy. fig. 20).

Pour faire des cultures de ce *Penicillium,* on prépare d'abord une solution minérale qui, sur 100 c. c. d'eau, contient : 0,05 gr. de phosphate d'ammonium (produit en saturant l'acide phosphorique par l'ammoniaque et en évaporant la solution), 0,05 gr. de phosphate acide de potassium (KH^2PO^4), 0,03 gr. de sulfate de magnésium et 0,01 gr. de chlorure de calcium. Dans cette solution, on portera avec les spores de *Penicillium* les matières organiques dont on recherche la valeur comme aliment pour ce champignon. Je verse dans 4 petits vases, par exemple, 20 c. c. de la solution minérale. Au liquide du vase 1, on n'ajoute rien. Le vase 2 reçoit 0,02 gr. de glucose; le vase 3, 0,2 gr., d'acide oxalique; le vase 4, 0,2 gr. d'acide citrique. Les liquides des vases 1 et 2 seront acidulés au moyen de quelques gouttes d'acide sulfurique très

(1) Voy. pour les corps humiques : Detmer, *Versuchsstationen,* vol. 14 et *Lehrbuch der Bodenkunde,* Leipzick, 1876, p. 422.

étendu. L'ensemencement de quantités minima de spores réussit le mieux en ajoutant à un grand volume d'eau une petite portion du *Penicillium* développé sur le pain, et en versant quelques c. c. de cette eau dans la solution nutritive. Les vases de cultures seront recouverts de papier à filtrer et laissés en repos, à la température ordinaire, dans l'obscurité. Dans mes expériences, le *Penicillium* après plus de 8 jours n'avait pas encore germé dans les vases 1 et 3, alors que les liquides des vases 2 et 4 étaient recouverts d'une couche épaisse de moisissure. Le glucose et l'acide citrique constituent, par conséquent, de bons aliments pour le champignon, tandis que l'acide oxalique n'est pas utilisé. Le développement du champignon ne se produit point en l'absence de corps organiques. On pourra, au moyen de la méthode dont nous venons de faire usage, rechercher la valeur des matières organiques les plus diverses pour la nutrition du *Penicillium*, et, quand cela sera nécessaire, déterminer quantitativement la masse du champignon produite, par pesée après filtration et dessiccation à 100 ° C. (1).

33. Quelques autres saprophytes.

Des tiges de *Vicia Faba* qui ont séjourné longtemps dans les champs pendant l'automne, sont plongées plusieurs heures dans l'eau. On les dépose ensuite sur du papier à filtrer dans un cristallisoir que l'on recouvre d'une lame de verre. Une luxuriante végétation de champignons ne tarde pas à se montrer sur les tiges. L'apparition du *Chondrioderma difforme*, dont les sporanges blanchâtres mesurent environ 1 millimètre de diamètre, est particulièrement intéressante à observer. Strasburger (2) a donné des indications précises sur le mode de culture qui convient à ce myxomycète. Les fructifications colorées en rouge d'un *Peziza* ne s'apercevaient que beaucoup plus tard dans mes expériences. Il en était de même d'autres champignons.

La bouse de vache, dans un cristallisoir recouvert d'une cloche en verre, est recouverte en peu de jours d'une belle végétation mycologique. Ce phénomène se produit en présence comme en l'absence de lumière. Des pédicelles de *Mucor mucedo* mesurant un ou plusieurs centimètres de longueur s'échappent d'abord du substratum. Chaque pédicelle porte à son extrémité supérieure un sporange sphérique. L'étude microscopique de ce champignon classique est très instructive. Plus tard, on remarque la présence d'une autre mucorinée, le *Pilobolus cristallinus*, qui possède de petits pédicelles et des sporanges noirs,

(1) Voy. Nägeli, *Sitzungsberichte d. k. bayr. Akadem. d. Wis.*, 1879, *mathematisch-physikalische klasse*, et Reinke, *Untersuchungen aus dem botanischen Institut d. Universität Göttingen*, 1883, heft 3.

(2) Voy. Strasburger, *Das botanische Praktikum*, 1884, p. 403. Une traduction française de cet ouvrage a été faite par M. Godfrin. Elle est intitulée : *Manuel technique d'anatomie végétale*.

demi sphériques et relativement grands. Au bout de quelques semaines, on voit une agaricinée à long pied et à chapeau court appartenant au genre *Coprinus*, et enfin, fréquemment, des fructifications d'*Ascobolus*, jaunâtres ou brunâtres, en forme de coupe. Tous ces champignons développent leur mycélium dans la bouse; seules, les parties sporifères sortent du substratum. Ces organismes, comme tous les champignons, sont dépourvus de chlorophylle et se nourrissent, par conséquent, des matières organiques de la bouse.

Lorsqu'on jette une mouche dans de l'eau d'étang, on voit surgir sur le corps bientôt putréfié de l'insecte des champignons rangés dans les genres *Saprolegnia* et *Achlya*. Les filaments blancs qui enveloppent la mouche, examinés au microscope, se montrent d'abord unicellulaires; un sporange claviforme se sépare plus tard à l'extrémité de chaque filament.

34. Expériences sur le Sacharomyces cerevisiae.

Une petite quantité de levure sèche déposée dans une goutte d'eau sur le porte-objet et recouverte d'une lamelle, montre au microscope, à côté des cellules sphériques du ferment, une grande quantité de grains d'amidon qui souillent la levure. Le protoplasme de ces cellules se colore en brun par l'iode. Une solution aqueuse d'hydrate de potassium dissout le contenu des cellules, de sorte qu'il ne reste plus que les membranes cellulaires. Lorsqu'on fournit, à une petite quantité de levure, des liquides dont l'action nutritive est énergique, on remarque à l'examen microscopique la formation, par bourgeonnement, de cellules-filles qui, accolées d'abord aux cellules-mères, s'en détachent plus tard.

On se procure deux vases en verre pouvant contenir environ 150 c. c. de liquide. Dans le vase *a*, on verse 100 c. c. d'un liquide constitué par 85 p. d'eau, 15 p. de glucose, 0, 2 p. de $KH^2 PO^4$, 0,02 p. de $Ca^3 (PO^4)^2$, 0,02 p. de $Mg SO^4$ et 1 p. de nitrate d'ammonium. Le vase *b* reçoit 100 c. c. d'un liquide constitué de la même manière que le précédent, mais ne renfermant pas de sucre. Une petite quantité de levure sèche lavée est mise dans de l'eau. On agite le mélange, puis on le laisse reposer. On donne alors aux solutions *a* et *b*, 2 c. c. du liquide laiteux qui surmonte le dépôt. Les solutions sont placées dans un thermostat dont la température est de 25-30° C. Une nutrition assez active se produit dans le vase *a* et le liquide devient trouble par suite du développement considérable de la levure. La solution du vase *b* demeure claire parce qu'il lui manque du sucre, substance qui constitue une source de carbone pour le champignon, ce qui empêche son développement (1). Si, longtemps après, on filtre le liquide du vase *a* et

(1) Voy. A. Mayer, *Lehrbuch der Gährungschemie*, 1874, p. 107 et *Untersuchungen über die alkoholische Gährung.*

qu'on recueille le précipité sur un filtre sec et taré, on pourra peser la quantité de levure formée. En déterminant la teneur en sucre du liquide contenu dans le vase *a*, avant l'addition de levure et après que la nutrition s'est longtemps effectuée (voy. la méthode à employer dans la troisième division), on observe qu'une grande quantitée de sucre a été absorbée pour permettre à l'organisme de vivr. Ce sucre est employé d'abord pour la production d'acide carbonique et d'alcool, ensuite pour la croissance du champignon.

On prépare une solution qui se compose de 85 p. d'eau, 15 p. de glucose, 0, 2 p. de $KH^2 PO^4$, 0,02 p. de $Ca^3 (PO^4)^2$, 0,02 p. de $MgSO^4$ et 1 p. de pepsine (sol. *a*). La solution *b* sera à peu près analogue à la précédente, mais le glucose sera remplacé par du sucre candi. Dès que les liquides auront été additionnés d'une grande quantité de levure et exposés à une chaleur de 25-30° C., on observera une nutrition énergique. Le sucre candi est interverti par la levure, et les matières nutritives qui en proviennent sont rapidement décomposées en alcool, acide carbonique, etc.

Deux solutions préparées de la manière qui vient d'être indiquée reçoivent une petite quantité de levure et sont tenues : l'une, froide (à 10 ou 15° C); l'autre, chaude (à 25 ou 30° C). Dans la première, on ne constate qu'un léger accroissement et qu'une faible multiplication. Dans la seconde, la nutrition sera dès le début très active et la multiplication, très rapide. On pourra aussi, par des expériences instituées en conséquence, montrer que la multiplication de la levure dans les solutions contenant du sucre, se fait tout aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité.

35. Les bactéries.

Nous préparons une certaine quantité de la solution nutritive de Pasteur (par le procédé indiqué dans le § 17) et nous en emplissons deux ballons à demi. Les vases dans lesquels on prépare cette solution seront tenus très propres. Un ballon reste ouvert, l'autre est fermé au moyen d'un bouchon en liège percé d'un orifice. Ce bouchon a été plongé au préalable dans l'eau bouillante. La branche la plus courte d'un tube en verre courbé à angle droit est introduite dans l'ouverture du bouchon, la plus longue est étirée en pointe. Le liquide des deux ballons sera porté à l'ébullition, et, après quelque temps, le tube sera rapidement fermé à la lampe. Les deux ballons seront alors laissés en repos. Dans le vase ouvert, la solution nutritive de Pasteur devient bientôt trouble, par suite du développement de bactéries et de divers autres organismes dont les germes ont été apportés par l'air dans la solution. Le liquide du vase fermé, au contraire, reste clair. Il ne peut pénétrer de germes dans cette solution maintenue à l'abri de l'air, et ceux qui s'y trouvaient d'abord ont été tués par l'ébullition du liquide.

Une certaine quantité d'extrait de malt (produit en traitant du malt en poudre par de l'eau et en filtrant la solution) devient trouble au bout de quelques jours. L'examen microscopique, qui se fait de la manière indiquée plus loin, montre qu'il existe une quantité innombrable de bactéries dans le liquide. A une basse température (environ 15° C.), c'est le *Bacterium aceti* qui semble surtout surgir dans l'extrait de malt; à une température supérieure (environ 50° C.), et on peut aisément y amener le liquide en se servant d'un thermostat, c'est le *Bacterium acidi lactici*. D'après Delbrück (1), on obtient d'une manière certaine le microbe de l'acide lactique à l'état pur, en versant

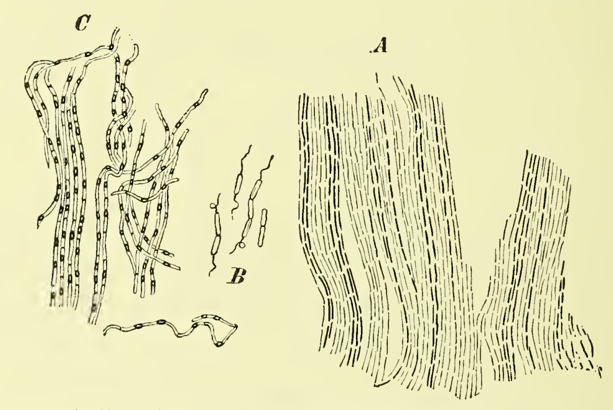


Fig. 21. — *Bacillus subtilis*. A, fragment de la zooglea; B, bâtonnets mobiles; C, formation de spores (d'après Strasburger). Gros.: A 500, C 800, B. 1000.

1000 gr. d'eau sur 200 gr. de malt sec et en plaçant pendant quelque temps le mélange, sans le filtrer, dans un thermostat chauffé à 50° C.

Le microbe du foin, *Bacillus subtilis*, est excessivement répandu dans la nature. Pour l'obtenir, on plonge du foin dans aussi peu d'eau que possible. Après avoir laissé reposer ce mélange pendant 4 heures à 36° C., sans le filtrer, on le dilue jusqu'à ce qu'il ait 1.004 pour poids spécifique. Si l'infusion est trop acide, on la neutralise avec du carbonate de soude. On la porte ensuite dans un ballon d'une capacité de 800 c. c. dont le col est bouché avec de l'ouate, puis on fait bouillir. Le liquide doit mijoter alors pendant une heure avec un faible dégagement de vapeur. Puis, on le laisse reposer dans un thermostat chauffé à 36° C. Au bout d'un jour ou deux, il se forme sur l'infusion une pellicule verdâtre qui constitue la zooglea du bacille du foin. Les spores de cet organisme ont seules pu supporter la température d'ébullition de l'eau; les autres bactéries qui se trouvaient dans l'infusion, ont été détruites. On obtient donc de cette façon une culture pure du microbe du foin. La pellicule

(1) Voy. le travail de Zopf in *Handbuch d. Botanik* de Schenk, vol. 3, p. 65. Le microbe de l'acide lactique se présente, comme celui du vinaigre, sous les formes coccus, bacter et bacil. De nombreuses figures concernant les bactéries accompagnent le travail de Zopf.

qui recouvrait l'infusion consiste en un mucilage dans lequel se trouvent de nombreuses baguettes disposées parallèlement les unes aux autres et formées par des bâtonnets (voy. fig. 21). On colorera ces derniers pour les faire nettement ressortir. C'est là une opération dont on fait un fréquent usage en bactériologie. Une petite quantité du liquide bactérifère est déposée sur une lamelle et soumise pendant quelque temps à la dessiccation à l'air. Cette lamelle est ensuite passée plusieurs fois rapidement dans une flamme à alcool, en ayant soin de tourner la face couverte de bactéries vers le haut. La lamelle reçoit alors une goutte d'une solution aqueuse de violet de méthyle ou de fuchsine (le mieux est de préparer cette solution en versant de l'eau distillée sur une petite quantité de la solution alcoolique de ces matières colorantes). On la laisse sécher à l'air, on la fait passer de nouveau dans la flamme à alcool, puis on l'examine à un fort grossissement après l'avoir recouverte de quelques gouttes d'essence de thérébentine (1).

36. Quelques champignons parasites.

Il existe un grand nombre de champignons qui provoquent des maladies chez d'autres plantes. Comme ils se nourrissent aux dépens de végétaux vivants, on doit les ranger parmi les organismes parasites et non parmi les saprophytes.

Pendant les mois de mai et de juin, les feuilles de *Berberis vulgaris* montrent souvent des tumeurs de couleur orangée présentant à leur partie inférieure la forme d'un coussinet. De minces sections transversales de la feuille de *Berberis* laissent apercevoir au microscope un mésophylle composé d'un parenchyme palissadique et d'un parenchyme lacuneux. Ces divers tissus s'observent aussi aux endroits épaissis, mais leur forme est quelque peu modifiée. Le contenu des cellules (plasma et grains de chlorophylle) est alors désorganisé et on rencontre de nombreux filaments mycéliens dans les espaces intercellulaires. Ces filaments appartiennent à la forme *Aecidium* du *Puccinia graminis*. On observera mieux ces détails en traitant les sections par une solution aqueuse d'hydrate de potassium.

A la partie inférieure du coussinet, on trouve des corps en forme de coupe qui, en grandissant, déchirent le pseudo-parenchyme qui les entoure, et finalement percent l'épiderme. Sous ces coupes, nous remarquons une masse compacte de filaments mycéliens. Chaque coupe comprend une enveloppe (péridie) et des basides, qui sont en relation avec l'hyménium dans la partie inférieure de la coupe et produisent de nombreuses spores. A la partie supérieure du coussinet, il n'existe pas d'écidies, mais on y voit des spermogonies : corps pyriformes dont la

(1) Voy. pour les recherches bactériologiques : Flügge, *Die Mikroorganismen*, Leipzick, 1868 (cet ouvrage a été traduit en français par le Dr F. Henrijean), et Hueppe, *Methoden d. Bacterienforschung*, 1886.

fonction est encore inconnue. Les spermaties qu'elles contiennent représentent, peut-être, des organes sexuels mâles.

Vers la mi-juin, les spores fournies par les écidies de *Puccinia* entrent en germination sur diverses graminées (froment, orge, avoine, etc.). On les rencontre surtout sur les chaumes ou les gaînes foliaires, provoquant l'affection connue sous le nom de rouille du blé. En examinant de minces sections transversales de chaumes d'avoine couverts de raies brunes, on aperçoit de nombreux filaments mycéliens traversant le tissu vert de la tige et désorganisant le contenu des cellules. Le mycélium produit ensuite par places un grand nombre de filaments dirigés vers l'extérieur, renflés chacun au sommet en une grosse spore unicellulaire (urédospore), qui soulève l'épiderme. Les urédospores sont finalement remplacées par des téleutospores dont nous ne suivrons pas le développement.

La maladie commune et si contagieuse de la pomme de terre est occasionnée par un champignon qui appartient à la famille des Péronosporées, le *Phytophthora infestans*. On peut l'observer en été sur les feuilles, et en hiver sur les tubercules, du *Solanum tuberosum*. Des tubercules malades de pommes de terre, aisément reconnaissables à leurs taches brunâtres quelque peu pénétrantes, sont découpés en lamelles qu'on laisse pendant deux jours sous une cloche en verre dans une atmosphère saturée d'humidité. La surface de ces lamelles se recouvre d'une mince couche de moisissure blanche. Le mycélium de *Phytophthora* existait dans les tubercules malades, il est fort développé entre les cellules et se nourrit aux dépens de celles-ci. Dans les conditions indiquées, le mycélium fait sortir de l'organe des filaments sporifères. Ces filaments, comme nous le montre le microscope, sont ramifiés à leur partie supérieure et forment des zoosporanges qui se détachent facilement sous l'action de l'eau. Si on abandonne plus longtemps sous la cloche de verre les morceaux de tubercules de pommes de terre malades, il se développe sur le substratum une riche végétation mycologique, étrangère au *Phytophthora*.

Le cycle évolutif d'un *Peziza*, notamment du *Peziza sclerotiorum*, est très intéressant à étudier. Ce champignon qui est rangé dans la famille des Discomycètes occasionne la maladie sclérotique commune du colza. Je me bornerai à montrer de quelle façon je l'ai cultivé. Quelques sclérotes sont déposés sur de la terre humide de jardin dans un pot à fleurs. Celui-ci est recouvert d'une lame de verre et placé à proximité d'une fenêtre. On veillera à ce que la terre ne se dessèche point. Après 6 à 10 semaines, les sclérotes pousseront de petites fructifications pédicellées. Les spores mûres que donnent les fructifications seront introduites, à l'aide d'une aiguille stérilisée sous l'action du feu, dans des morceaux de carotte qui auront été chauffés superficiellement par immersion dans l'eau chaude. La germination des spores s'effectue au bout de quelques jours dans un cristallisoir placé sous une cloche en verre. Il

se développe bientôt à la surface des morceaux de carotte un beau mycélium, qui détruit les tissus de la racine qui ont résisté à l'action de la chaleur. En certains endroits du mycélium, on observe l'apparition de boules molles et blanches qui s'épaississent de plus en plus, et s'entourent finalement d'une écorce de couleur foncée : les sclérotes sont formées. Elles pourront, après une longue période de repos, produire de nouvelles fructifications. Nous portons également dans un petit orifice pratiqué dans une citrouille placée dans un vase fermé, une petite quantité du mycélium cultivé sur un morceau de carotte. Ce mycélium va pénétrer dans les tissus vivants, s'y développer à merveille et former des sclérotes en détruisant complètement la citrouille (1).

37. Les lichens.

Les lichens sont, comme on le sait, des organismes qui doivent leur existence à la vie en commun (symbiose) de champignons et d'algues. Dans cette symbiose, l'algue, grâce à sa chlorophylle, peut élaborer aux dépens de substances inorganiques les matières organiques qui sont nécessaires à sa vie et à celle du champignon; ce dernier prend l'algue sous sa protection. Le thalle des lichens est homœomère ou hétéromère. Pour nous faire une idée de la structure de ces organismes remarquables, nous nous servirons d'un lichen appartenant au groupe des hétéromères, de l'*Usnea barbata*.

Nous emploierons des matériaux frais ou, comme j'ai eu l'occasion de le faire, des matériaux d'herbiers ramollis dans l'eau, et nous pratiquerons une section transversale mince dans une forte branche d'un thalle. On voit, au microscope, que ce thalle se compose d'une partie médullaire et d'une partie corticale. Ces deux couches sont constituées par des filaments rameux. L'écorce et le cordon axile de la moelle sont formés d'un tissu compact, tandis que la région périphérique de cette moelle est constituée par des filaments lâchement enchevêtrés, laissant entre eux des lacunes pleines d'air. Les algues vertes s'observent facilement sur la ligne de séparation de l'écorce et de la moelle. Elles forment une zone particulière, limitée de toutes parts par des filaments mycéliens qui se dirigent de la moelle vers l'écorce. Pour se rendre compte de la structure des autres lichens, on examinera les fructifications de *Cladonia* et le thalle dorsiventral d'un *Sticta* (2).

38. Expériences sur les plantes carnivores.

Les *Droseras* que l'on veut employer à des recherches physiologiques

(1) On trouvera de nombreuses indications sur les champignons parasites dans l'ouvrage de Frank, intitulé : *Krankheiten der Pflanzen*, Breslau, 1880.

(2) On trouvera des détails sur la structure et la vie des lichens dans : De Bary, *Vergleichende Morphologie und Biologie der Pilze, etc.*, Leipzick, 1884, p. 425.

seront cultivés de préférence sous des cloches en verre, sur du *Sphagnum* humide placé dans des vases plats en terre. Les *Droseras* se rencontrent fréquemment et en grandes quantités dans les terrains marécageux, tourbeux (voy. fig. 22). Pour les cultiver, il suffira d'en détacher une motte et de la déposer sur des sphaignes. Lorsque la feuille de *Drosera* reçoit une excitation, son limbe, comme on le sait, se reploie et ses tentacules se rassemblent. Nous portons un morceau de viande crue, de la grosseur d'une

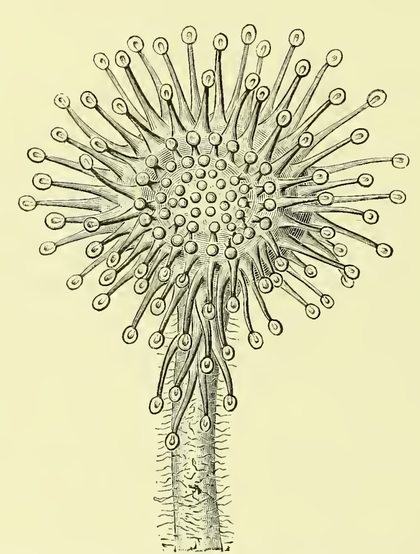


Fig. 22. — Face supérieure de la feuille de *Drosera rotundifolia* (d'après Darwin). Gros. 4.

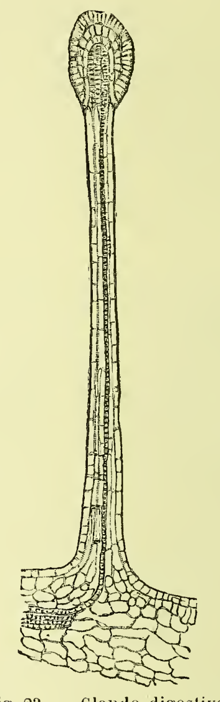


Fig. 23. — Glande digestive du *Drosera rotundifolia*. Gros. 60.

tête d'épingle, sur une feuille d'un *Drosera* bien vigoureux. Au bout de quelque temps (après 24 heures, dans mes expériences, effectuées à une température de 20° C.), tous les tentacules se sont infléchis. Ils entourent le morceau de viande, et le produit de la secrétion de leurs glandes digestives dissout l'albumine (1). Mais finalement (après 48 heures, dans mes expériences), les filaments se redressent. En portant des substances organiques ou inorganiques non azotées (j'expérimentais avec des morceaux de verre ou des boulettes de papier), l'inflexion des tentacules se produit également, mais on peut observer que ces corps provoquent plus lentement les mouvements foliaires que le morceau de viande. On remarquera qu'une excitation chimique (un morceau de viande) ou une excitation due à un simple contact (un morceau de verre) déterminent également, par suite de la propagation de l'excitation,

(1) Rees et Will ont isolé des feuilles de *Drosera* un ferment peptonique, voyez *Botan. Zeitung*, 1876, n° 44.

le mouvement des tentacules dont les glandes digestives n'ont pas été mises directement en contact avec la cause d'excitation.

Les tentacules de *Drosera* montrent, au microscope (il est bon de les déposer dans une goutte de la solution d'hydrate de chloral pour clarifier leurs tissus), que leur pédicelle est formé par des cellules étirées suivant la longueur de l'organe. Les plus gros pédicelles sont parcourus en leur milieu par des trachées. L'extrémité renflée du tentacule est constituée en son milieu par des éléments trachéens allongés radialement et disposés en éventail (voy. fig. 23).

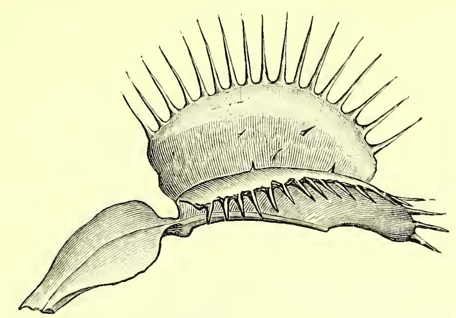


Fig. 24. — Feuille de *Dionæa muscipula* déployée, vue de profil.

Les exemplaires de *Dionæa muscipula* dont on veut faire usage pour les expériences de physiologie, se cultivent le mieux sur des morceaux de tourbe placés sous une cloche en verre. Je ne m'occuperai point de la morphologie de la feuille de *Dionæa*; je me bornerai à attirer l'attention sur quelques faits faciles à observer. Si on remue, avec un petit morceau de bois, par exemple, les poils effilés qui se trouvent sur sa face supérieure, la feuille du *Dionæa* se ferme rapidement. Bientôt (au bout de 24 heures, dans mes expériences), les lobes foliaires seront de nouveau étalés (voy. fig. 24). Un morceau de viande crue déposé sur une feuille de *Dionæa* détermine aussitôt, par suite de l'attouchement des poils, le reploiement du limbe. La feuille demeurera maintenant fermée pendant longtemps (plus de 8 jours, dans mes expériences), contrairement à ce qui se passe dans les feuilles dont les mouvements ont été provoqués par le contact de corps non azotés (morceaux de verre, boulettes de papier) ou par simple agitation des poils. Quand une feuille de *Dionæa* qui a reçu de la viande, vient à se rouvrir, on voit que la viande a été plus ou moins désorganisée et dissoute : phénomène dû au suc produit par la secrétion des glandes qui se trouvent à la face supérieure de la feuille. Ce suc qui a une réaction acide, adhère encore en assez grande quantité à la face supérieure des feuilles qui ont été nourries avec de la viande, et qui se sont rouvertes depuis longtemps. Les corps non azotés déposés sur une feuille de *Dionæa* ne provoquent point de secrétion glandulaire, la face supérieure des lobes foliaires reste sèche en l'absence de matières albuminoïdes (1).

(1) Voy. : pour les détails concernant les plantes carnivores, l'ouvrage de DARWIN, paru en 1876, sur les plantes insectivores; pour des notions générales, DETMER, *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, 1883, p. 65 et 282.

DEUXIÈME DIVISION.

LES FORCES MOLÉCULAIRES DES PLANTES

I. LES PRODUCTIONS ORGANISÉES LES PLUS IMPORTANTES DES CELLULES VÉGÉTALES.

39. Les membranes des cellules végétales.

Les membranes cellulaires végétales ne sont pas toujours formées exclusivement de cellulose; elles sont souvent plus ou moins riches en substances étrangères que l'on peut désigner, d'une manière générale, sous le nom de corps d'inclusion. C'est par cette inclusion de substances étrangères que se produisent, par exemple, la cutinisation et la lignification, dont nous allons avoir à nous occuper. Dans beaucoup de cas, la cellulose demeure l'élément constituant le plus important de la membrane cellulaire, comme le montre clairement l'action de divers réactifs.

Nous déposons sur un porte-objet dans une goutte d'eau, des graines velues d'un *Gossypium* ou quelques brins d'ouate. Nous remarquons que ces poils ont la forme d'un cône très allongé et possèdent une membrane relativement épaisse, se colorant en brun par la solution iodo-iodurée (préparée en dissolvant 0,05 gr. d'iode et 0,2 gr. d'iodure de potassium dans 15 gr. d'eau). En faisant passer de l'acide sulfurique (mélange de 2 p. d'acide sulfurique concentré et de1 p. d'eau) du bord de la lamelle à l'objet, et en examinant immédiatement, on remarque que les poils se colorent en bleu. Les membranes d'autres cellules, formées principalement de cellulose comme les poils séminaux du cotonnier, donnent la même réaction. Les membranes constituées principalement par de la cellulose prennent, de même, une coloration bleue sous l'action de la solution de chlorure de zinc iodé. Il sera facile de s'en assurer en traitant sur un porte-objet quelques brins d'ouate par ce réactif. La solution de chloro-iodure de zinc se prépare de la manière suivante : on dissout à la température ordinaire du zinc pur, en cylindres, dans de l'acide chlorhydrique pur jusqu'à saturation ; on évapore en présence de zinc métallique, jusqu'à consistance de l'acide sulfurique; on ajoute au liquide autant d'iodure de potassium qu'il peut en dissoudre, et enfin on le sature avec de l'iode qui se dissout peu à peu.

L'étude de la cuticule se fera sur des sections transversales pratiquées dans une tige de l'année de *Viscum album* ou dans une feuille d'*Aloës*. Les feuilles d'*Ilex aquifolium* ont aussi une cuticule très développée. Une section transversale très mince à travers la nervure médiane d'une feuille d'*Ilex* nous apprend que les cellules épidermiques de la face inférieure de la feuille possèdent une ouverture en forme de croissant. Les couches cuticulaires des membranes cellulaires se portent vers les parois latérales des cellules, et sont recouvertes extérieurement par la cuticule proprement dite (1). Dans la plupart des feuilles et des autres organes végétaux, la cuticule est mince et d'une grande finesse.

Pour étudier le liège, on fera usage : de sections transversales minces pratiquées dans l'enveloppe du tubercule de la pomme de terre, de liège de bouchon ou de morceaux de tiges âgées (d'à peu près 1 cm. d'épaisseur) d'*Aristolochia sipho*. Les cellules du liège ont une section plus ou moins tabulaire et sont rangées en séries radiales. On observe dans le périderme de l'aristoloche, une alternance de larges zones de cellules subéreuses de grand diamètre et de zones plus grêles d'éléments étroits. Une solution concentrée de potasse colore en jaune les membranes cuticularisées et subérisées. Cette coloration augmente d'intensité lorsqu'on chauffe les préparations (2).

Nous pratiquerons une section transversale dans un rameau de tilleul de quelques millimètres de diamètre. Les particularités de cette coupe sont faciles à interpréter. La portion ligneuse, composée surtout de vaisseaux de divers calibres et de fibres ligneuses, et la portion libérienne du faisceau libéro-ligneux attireront ici plus spécialement notre attention. Les masses libériennes, en forme de coins, sont terminées en pointes et leur extrémité aiguë pénètre dans l'écorce, tandis que les extrémités, cunéiformes, des rayons médullaires primaires qui alternent avec les masses libériennes, tournent leur pointe vers le bois. Dans les amas libériens, se remarque une succession de bandes claires formées de fibres libériennes fortement sclérifiées, et de bandes sombres de liber mou. Nous déposons cette coupe sur un porte-objet dans une goutte d'une solution alcoolique de phloroglucine. Après quelque temps, lorsque l'alcool est dilué, nous recouvrons la coupe avec de l'acide chlorhydrique concentré et nous l'examinons au microscope. Tous les éléments lignifiés se sont colorés en rouge, les autres sont restés incolores; de sorte que la phloroglucine peut être considérée comme un excellent réactif de la lignification (3). Il importe de remarquer que ce ne sont point seulement les éléments ligneux proprement dits du faisceau

(1) Voy. pour les détails : DE BARY, *Vergleichende Anatomie d. Vegetationsorgane*, etc., p. 77.

(2) Voy. les autres réactions : v. HÖHNEL, *Sitzungsberichten d. Akadem. d. Wiss. zu Wien*, B. 76, I Abth., p. 507.

(3) WIESNER, *Sitzungsberichten d. Akadem. d. Wiss. zu Wien*, B. 77, I Abth., 1878, p. 60.

libéro-ligneux qui se sont colorés en rouge, mais que les fibres qui se rencontrent dans le liber mou, ont également pris cette coloration. Il en résulte que ces fibres possèdent aussi des membranes lignifiées.

Si on traite par la phloroglucine et l'acide chlorhydrique, de la manière indiquée, des sections transversales pratiquées dans des rameaux de *Fagus silvatica*, de 2 mm. de diamètre, on observe que la lignification a envahi la moelle, les rayons médullaires, la portion ligneuse des faisceaux et les amas de fibres libériennes plongées dans le liber mou. Les éléments du cambium, du liber mou, du périderme et de l'écorce, n'étant point colorés en rouge, ne sont donc pas lignifiés. Le sulfate d'aniline constitue aussi un réactif très sensible du lignin. Une solution aqueuse concentrée de cette substance est additionnée de quelques gouttes d'acide sulfurique. On dépose une goutte de ce liquide sur l'objet à examiner, placé sur un porte-objet. Les éléments lignifiés prennent aussitôt une couleur jaune plus ou moins accentuée. Les amas de fibres libériennes des rameaux de *Fagus silvatica* sont d'un jaune d'or brillant. Une solution aqueuse de vert de méthyle donne aux membranes lignifiées une belle couleur bleu verdâtre, et bleuit les non-lignifiées.

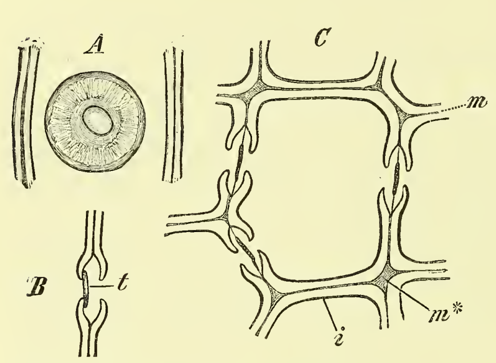


Fig. 25. — *Pinus silvestris*. A, ponctuation aréolée vue de face; B, ponctuation aréolée sur une coupe longitudinale tangentielle; *t*, torus; C, coupe transversale d'une trachéide; *m*, lamelle moyenne; *m**, épaississement de la lamelle moyenne; *i*, membrane limite (d'après Strasburger). Gros. 540.

Pour étudier les formes d'épaississements les plus importantes, on effectuera les expériences qui vont suivre. Les ponctuations aréolées des trachéides du bois de conifères s'observent le mieux sur des sections transversales et longitudinales radiales très minces, pratiquées dans la région ligneuse périphérique de fragments de tiges de *Pinus silvestris* (voy. fig. 25). Les trachéides, longuement étirées, s'accolent par leurs extrémités aiguës et laissent facilement apercevoir leurs ponctuations aréolées sur leurs faces radiales, c'est-à-dire sur les faces tournées vers les rayons médullaires. Une mince section longitudinale radiale d'un rameau d'aristoloche, de 1 cm. de diamètre environ, montre un grand nombre de trachéides à ponctuations aréolées ainsi que des vaisseaux étroits et des vaisseaux très larges présentant des ponctuations aréolées aussi et des diaphragmes annulaires. Sur des sections longitudinales radiales, le bois des rameaux de *Berberis vulgaris* se montre constitué, presque exclusivement, par des vaisseaux à ponctuations aréolées et des fibres ligneuses. En pratiquant des sections longitudinales radiales dans la tige de l'*Helianthus annuus* ou dans l'axe hypo-

cotylé complètement allongé du *Ricinus communis*, on verra, à côté d'autres éléments (vaisseaux ponctués, fibres ligneuses, etc.), les premiers vaisseaux spiralés déroulables du bois primaire du faisceau. On fera usage de matériaux conservés dans l'alcool ou, pour l'*Helianthus*, de fragments de tiges desséchées (1) (voy. fig. 26).

Pour examiner isolément les éléments qui constituent le bois, nous les dissocierons par macération. On verse de l'acide nitrique, de

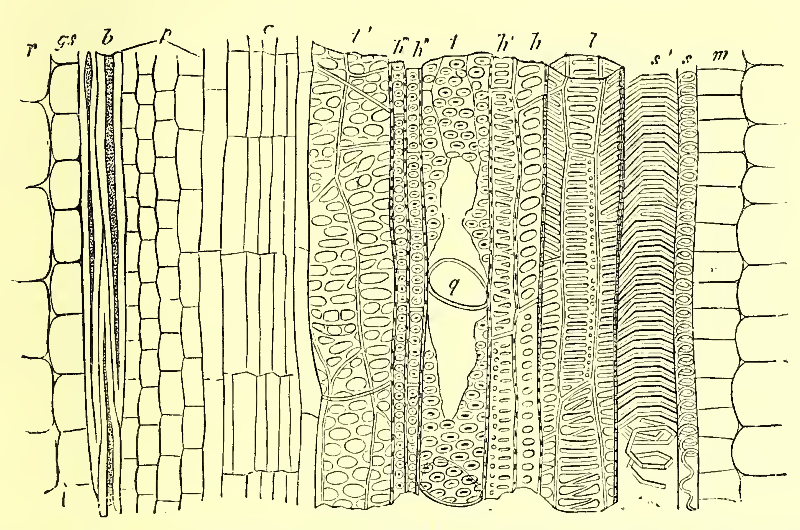


Fig. 26. — Section longitudinale d'un faisceau libéro-ligneux situé dans l'axe hypocotylé complètement allongé du *Ricinus communis*. *r*, parenchyme cortical; *gs*, assise protectrice du faisceau; *m*, parenchyme médullaire; *b*, fibres libériennes; *p*, parenchyme libérien; *c*, cambium. Dans le bois du faisceau, les éléments se développent progressivement de *s* en *t'*; *s*, premier vaisseau spiralé très étroit et très long; *s'*, large vaisseau spiralé, tous deux ont leur rubau spiralé déroulable; *l*, vaisseau scalariforme et en partie réticulé; *h* et *h'*, fibres ligneuses; *t*, vaisseau ponctué (en *q*, on voit la trace de la cloison résorbée); *h''* et *h'''*, fibres ligneuses; *t'*, vaisseau ponctué encore jeune, les ponctuations forment d'abord leur aréole externe, plus tard seulement apparaît le pore interne. On remarque sur la paroi des vaisseaux en *l*, *t*, *t'*, les arêtes de contact des cellules voisines enlevées. (D'après Sachs).

manière à les recouvrir complètement, sur des petits morceaux de chlorate de potassium placés dans un large tube à réactions. Des sections longitudinales, pas trop minces, provenant du bois d'un rameau de *Tilia* ayant un diamètre de 5 mm., sont déposées dans le mélange et on chauffe à la flamme à alcool jusqu'à ce qu'il se produise un vif dégagement de gaz. Après avoir laissé agir le réactif pendant quelques minutes encore sur les morceaux de bois, on verse tout le contenu du tube dans une grande quantité d'eau. Les coupes qui flottent à la surface de l'eau, sont enlevées au moyen d'une baguette en verre, lavées à l'eau

(1) Pour la nature chimique des substances qui interviennent dans la lignification, voy. Singer, *Sitzungsber d. Akadem. d. Wiss. zu Wien*, 1882, V. 85, p. 345. La vanilline est un élément important des membranes lignifiées des cellules végétales. Sa présence peut être décelée par la phloroglucine et le sulfate d'aniline.

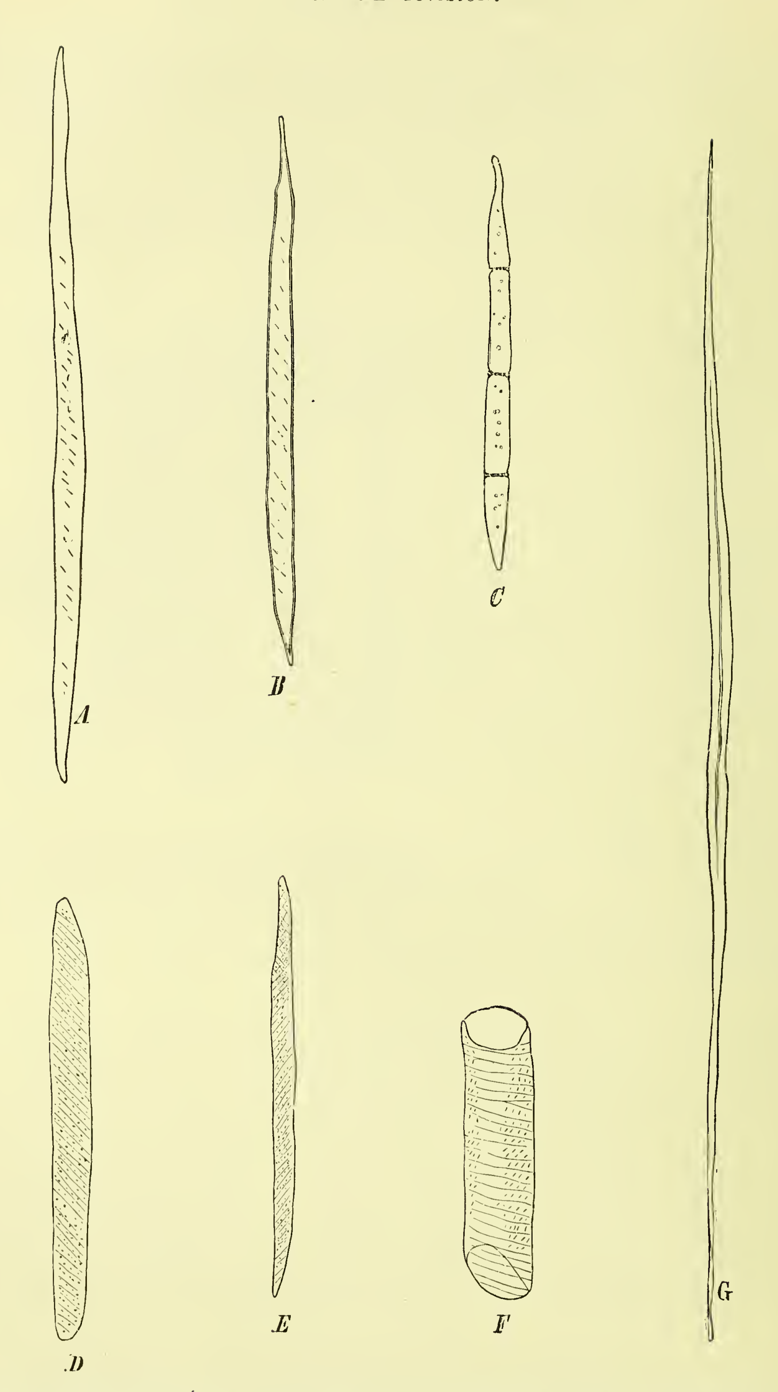


Fig. 27. — *Tilia parvifolia.* Éléments du bois et du liber secondaires isolés par macération. A et B, fibres ligneuses (libriformes) ; C, parenchyme ligneux ; D et E, trachéides ; F, fragment d'un vaisseau ; G, fibre libérienne (d'après Strasburger). Gros. 180.

distillée et déposées avec une goutte d'eau sur un porte-objet. La lamelle moyenne qui séparait les éléments ligneux a été détruite par la macération, et on pourra observer au microscope, après les avoir séparés au moyen d'aiguilles, les divers éléments du bois. Nous constaterons la présence d'un grand nombre de fibres ligneuses et de vaisseaux (ces derniers, en partie détruits), et l'absence complète des trachéides et des cellules à parois minces du parenchyme ligneux (voy. fig. 27).

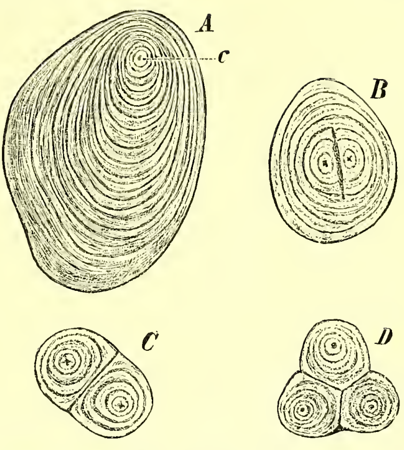


Fig. 28. — Grains d'amidon du tubercule de pomme de terre. A, grain simple ; B, demi-composé; C et D, grains composés ; c, centre d'organisation (d'apr. Strasburger). Gros. 540.

40. Les grains d'amidon.

Une petite quantité de fécule de pomme de terre desséchée à l'air est déposée sur un porte-objet dans une goutte d'eau, et recouverte d'une lamelle. On peut aussi s'en procurer en coupant un tubercule de pomme de terre et en raclant la surface de section à l'aide d'un couteau. Le produit obtenu sera examiné au microscope. Les dimensions des grains de fécule sont très variables; quelques-uns atteignent une dimension relativement considérable. Leur structure est excentrique, c'est-à-dire que leur centre d'organisation, autour duquel les couches sont groupées, ne coïncide pas avec leur centre de figure (voy. fig. 28).

Nous coupons un rhizome de *Canna indica* et nous ra-

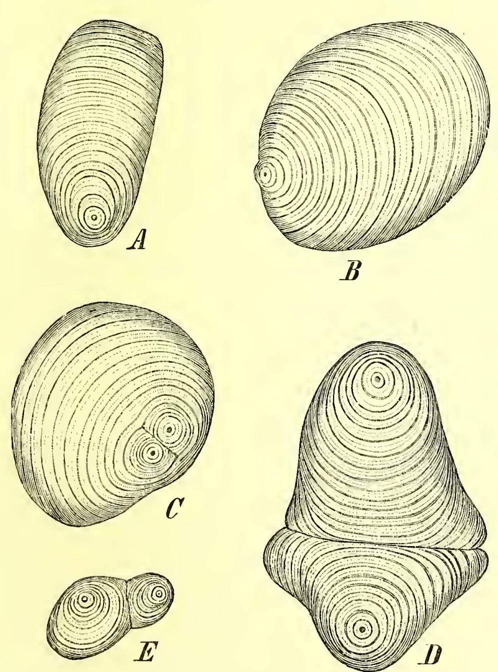


Fig. 29. — Grains d'amidon du rhizome de *Canna indica*. A et B, grains simples ; C, grain demi-composé ; D et E, grains composés (d'après Strasburger). Gros. 540.

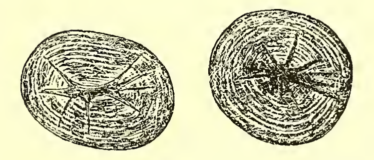


Fig. 30. — Grains d'amidon du cotylédon de *Phaseolus vulgaris* (d'après Strasburger). Gros. 540.

clons la surface de section avec un couteau. Une petite quantité de la substance ainsi recueillie est déposée sur un porte-objet dans une goutte d'eau, et recouverte d'une lamelle. Nous remarquons au microscope la présence de grains de fécule de grandes dimensions, présentant une belle stratification et un noyau placé très excentriquement (voy. fig. 29).

Les grains d'amidon des cotylédons de *Phaseolus vulgaris* ont une structure centrique. Examinés dans une goutte d'eau, ils montrent en leur milieu une cavité qui est due à l'action de l'eau, car cette cavité ne s'aperçoit point lorsqu'on examine ces grains dans la glycérine (voy. fig. 30).

Les grains d'amidon de l'endosperme de *Triticum* présentent une forme arrondie et des dimensions très variables. Ils ont une structure centrique et leur stratification s'aperçoit difficilement.

41. Action de l'iode sur l'amidon.

On verse de l'eau distillée sur une petite quantité de fécule de pomme de terre contenue dans un tube à réactions. Après avoir fréquemment secoué le liquide, on le laisse reposer pendant longtemps (quelques heures), puis on filtre. Si on dépose, à l'aide d'une baguette de verre, quelques gouttes de teinture d'iode dans le filtrat, celui-ci ne se colore pas en bleu. L'eau distillée ne peut enlever de substance amylacée aux grains de fécule.

On verse de nouveau de l'eau distillée sur une petite quantité de fécule de pomme de terre contenue dans un tube à réactions. Il se produira, si on chauffe, un mélange trouble de substance amylacée et d'eau (empois). Si on ajoute, après refroidissement, une petite quantité de la solution alcoolique d'iode, l'empois prendra une belle coloration bleue caractéristique. Cette réaction est très sensible; on peut aisément s'en convaincre en traitant par la solution alcoolique d'iode une petite quantité d'empois mélangée à un très grand volume d'eau, le liquide se colorera encore en bleu. Si on chauffe l'empois coloré en bleu par l'iode, la coloration disparaît; à une température élevée, l'eau jouit de la propriété de dissoudre une assez grande quantité d'iode et de l'enlever à l'amidon. Le refroidissement fait réapparaître la coloration.

Une très petite quantité de fécule de pomme de terre ou de toute autre sorte d'amidon est portée dans une goutte d'eau sur un porte-objet. On recouvre d'une lamelle et on dépose une goutte de solution d'iode (eau iodée, teinture d'iode ou solution iodo-iodurée) au bord de la lamelle. L'eau iodée se prépare en versant de l'eau distillée sur de l'iode et en laissant ces deux substances en contact pendant quelques jours. Pour préparer la solution iodo-iodurée, on verse 60 p. d'eau sur 3 p. d'iodure de potassium et on ajoute 1 p. d'iode à ce mélange. Cette solution peut être étendue par l'addition d'eau. La goutte de solution

iodée déposée au bord de la lamelle pénètre progressivement jusqu'aux grains d'amidon. Au fur et à mesure que l'iode s'accumule dans les grains, on voit au microscope qu'ils se colorent d'abord en bleu clair et ensuite deviennent peu à peu d'un bleu foncé.

On porte de la fécule desséchée de pomme de terre sur un porte-objet dans une goutte de teinture d'iode fraîchement préparée et parfaitement anhydre. L'examen microscopique nous montre que les grains ont pris une couleur brune; mais si on fait arriver de l'eau à la préparation, la couleur bleue apparaît. Les grains d'amidon ne se colorent donc en bleu par l'addition d'iode que lorsqu'ils sont fort imbibés d'eau.

42. Les grains d'amidon dans la lumière polarisée.

Il est très instructif d'observer les phénomènes que présentent les grains d'amidon dans la lumière polarisée, et qui ont fait l'objet d'études spéciales de la part de Mohl (1) et de Nageli (2). Cela nécessite naturellement un appareil polarisateur et un microscope à platine assez élevée. Le polarisateur se place en dessous de la platine. Comme analyseur, on emploiera de préférence l'oculaire-analyseur d'Abbe, que l'on peut se procurer, ainsi que le polarisateur, à la maison Zeiss d'Iéna.

Les grains d'amidon seront transportés de la manière ordinaire dans une goutte d'eau déposée sur un porte-objet, et recouverts d'une lamelle. Quand les plans de polarisation du polarisateur et de l'analyseur seront parallèles, le champ visuel sera clair. On placera alors les objets à examiner. En croisant les nicols (ce qui s'obtient facilement en tournant l'oculaire-analyseur) le champ visuel devient obscur. Les grains d'amidon se détachent très clairs sur le fond obscur et portent une croix noire. On voit apparaître de très beaux phénomènes de coloration, quand on examine les grains d'amidon à l'aide du microscope de polarisation et qu'on intercale des lamelles de gypse, de propriété connue, entre l'objet et le polarisateur (3).

J'ai examiné dans la lumière polarisée toute une série d'amidons de provenances diverses; c'est l'amidon de pomme de terre qui fournissait la plus belle image. Il n'est plus possible d'admettre aujourd'hui que les micelles des grains d'amidon et des autres productions organisées du règne végétal, possèdent la nature de cristaux à deux axes optiques; on doit expliquer d'une autre façon la manière d'être particulière des formations organisées végétales dans la lumière polarisée (4). Je n'abandonne d'ailleurs pas, comme je l'ai déjà fait remarquer en un autre

(1) Voy. H. v. Mohl, *Botanische Zeitung*, 1858, p. 1.
(2) Voy. Nägeli, *Sitzungsberichte d. Akadem. d. Wiss. zu München*, 1862, t. I, p. 311.
(3) Voy. pour les détails : Nägeli et Schwendener, *Das Mikroskop*.
(4) Voy. Strasburger, *Bau und Wachsthum d. Zellhaüte*, 1882, p. 208, et Zimmerman, *Berichte der deutschen botanischen Geselschaft*, vol. 2, p. XVII.

endroit, l'hypothèse d'après laquelle les productions végétales organisées seraient constituées par des micelles (1).

43. Les formations protoplasmatiques des cellules végétales.

On peut considérer comme corps protoplasmatiques des cellules végétales, les éléments constituants organisés et riches en albumine de leur contenu (le protoplasme proprement dit et vivant, les noyaux, les leucoplastes, les corps protéiques, etc.). Les corps chlorophylliens ont été traités dans le § 5, nous reviendrons plus loin sur les formations protoplasmatiques imprégnées de matières colorantes.

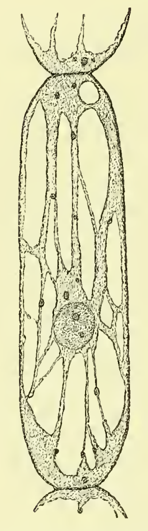


Fig. 31. — Cellule des poils staminaux du *Tradescantia virginica* (d'après Strasburger). Gros. 240.

L'aspect que présente au microscope le protoplasme des cellules dépend essentiellement du nombre et de la grandeur des vacuoles qu'il contient. Un grand nombre de petites vacuoles lui donnent une apparence spumeuse, mais le protoplasme dans un grand nombre de cellules, surtout dans les cellules adultes, se montre à nous de la manière représentée par la fig. 4 ou d'une manière analogue. Nous déposons, sans préparation préalable, de jeunes feuilles provenant du bourgeon terminal d'un *Elodea* dans une goutte d'eau sur un porte-objet. Nous les recouvrons ensuite d'une lamelle pour les examiner au microscope. Le revêtement protoplasmique pariétal, qui tapisse intérieurement la membrane cellulaire, et la couche de protoplasme qui entoure le noyau, sont faciles à distinguer. Le revêtement pariétal et la couche périnucléaire sont réunis par des filaments protoplasmiques qui traversent librement le suc cellulaire remplissant l'intérieur de la cavité de la cellule. De nombreux grains de chlorophylle se remarquent dans le protoplasme. Le corps protoplasmique des cellules à suc cellulaire violet, qui, articulées bout à bout, forment les poils staminaux du *Tradescantia*, présente des particularités analogues à celles de l'*Elodea* (voy. fig. 31). On peut aisément le constater en enlevant une touffe de ces poils avec une fine pince dans une fleur ouverte de *Tradescantia virginica* ou d'une espèce voisine, et en les soumettant à l'examen microscopique.

Le protoplasme est toujours entouré d'une membrane hyaline, la couche membraneuse ou hyaloplasme, à la surface de laquelle se montre la membrane cellulaire. La couche membraneuse se rencontre aussi aux

(1) Voy. Detmer, *Lehrbuch d. Pflanzenphysiologie*, 1883, p. 71.

endroits où le protoplasme confine au suc cellulaire. La substance fondamentale du protoplasme, granuleuse, est caractérisée par la grande quantité d'eau qu'elle contient et par son mouvement qui entraîne les microsomes et, souvent aussi, des grains de chlorophylle, etc. La couche d'hyaloplasme est tellement mince dans la plupart des cellules qu'elle échappe à l'observation directe. Dans quelques plantes, on peut cependant constater aisément sa présence. Cette couche membraneuse est notamment très développée dans les cellules internodiales de *Nitella*, genre d'algues dont les espèces se rencontrent fréquemment dans les eaux pauvres en calcaire. Les corps qui se trouvent dans la couche granuleuse du protoplasme, sont animés d'un vif mouvement auquel l'hyaloplasme ne prend point part.

J'ai souvent attiré l'attention (1) sur le défaut d'identité des molécules d'albumine du protoplasme vivant et du protoplasme mort. Les résultats de certaines observations de Loew et Bokorny (2) viennent confirmer cette manière de voir, sur laquelle nous devons quelque peu nous étendre. Nous préparons une solution de potasse d'un poids spécifique de 1,333, et nous en mélangeons 13 c. c. avec 10 c. c. d'ammoniaque, ayant un poids spécifique de 0, 960, et 77 c. c. d'eau distillée. Nous faisons ensuite une solution (dans l'eau distillée) de nitrate d'argent à 1 %. Avant d'employer ces solutions, nous les mélangeons à raison de 1 c. c. de chacune, et nous diluons jusqu'à un litre. Nous déposons quelques filaments de *Spirogyra* (d'autres cellules donnent la même réaction, mais d'une manière moins nette) dans un litre de ce mélange, et nous les y laissons séjourner pendant quelque temps avant de les examiner au microscope (pendant environ 3 heures à une haute température, par exemple 30° C.; pendant un temps plus long, à une basse température). On observe alors que le protoplasme des cellules s'est coloré en noir par suite de la réduction du sel d'argent. Mais — et c'est un fait particulièrement important — cette réduction ne se produit que si les cellules sont plongées vivantes dans le liquide. Des cellules de *Spirogyra* tuées par la chaleur, l'alcool ou tout autre moyen, ne prennent qu'une coloration jaune ou brune après avoir séjourné dans la solution alcaline d'argent. La couleur noire se produit mieux, mais aussi plus lentement, lorsqu'on plonge quelques filaments vivants de *Spirogyra* dans une solution formée par le mélange de 10 milligrammes de nitrate d'argent et de 5 c. c. d'eau de chaux avec un litre d'eau distillée. Pendant la réaction, on aura soin d'empêcher l'accès d'air chargé d'acide carbonique.

Je suis porté à croire que la coloration noire du protoplasme des cellules, plongées vivantes dans la solution argentique, provient de la ré-

(1) Voy., par exemple, Detmer, *Lehrbuch d. Pflanzenphysiologie*, 1883, p. 151.
(2) Voy. Loew et Bokorny, *Die chemische Ursache des Lebens*, et *Botan. Zeitung*, 1882, p. 824.

duction du nitrate d'argent par des corps non azotés, aldéhydiques, qui se forment en même temps que des acides amidés et des amides pendant la décomposition des molécules vivantes d'albumine. Les molécules mortes ne possèdent pas la même influence sur la solution argentique, parce qu'elles ne se décomposent pas de la même façon que les vivantes.

Occupons-nous maintenant du noyau. Certains réactifs nous montrent qu'il contient des matières albuminoïdes. La solution iodo-iodurée (préparée en dissolvant 0,050 gr. d'iode et 0,200 gr. d'iodure de potassium dans 15 c. c. d'eau distillée) donne aux noyaux une couleur jaunâtre. Le vert de méthyle acétique (produit en portant une petite quantité de vert de méthyle dans une solution d'acide acétique à 1 %) leur communique une belle coloration verte. Lorsqu'on traite les cellules par ces réactifs, les noyaux apparaissent nettement; ce qui est souvent d'une grande importance. J'ai eu fréquemment l'occasion de constater que les noyaux des cellules épidermiques de la feuille d'*Aspidistra* se coloraient très bien avec le vert de méthyle acétique. Pour étudier l'action de la solution iodo-iodurée sur le noyau, nous nous adresserons aux cellules épidermiques de la feuille d'*Escheveria globosa*, ou nous emploierons des sections transversales minces de la première gaîne foliaire de germinations de maïs. Les cellules du parenchyme de cette gaîne ont un noyau assez volumineux. Les cellules voisines des stomates que l'on rencontre sur la face inférieure de la feuille de *Tradescantia virginica*, ont aussi un noyau très développé, comme on peut s'en assurer en examinant au microscope des lambeaux d'épiderme de cette feuille.

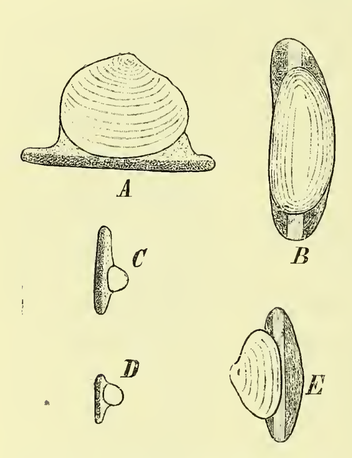


Fig. 32. — Grains d'amidon du tubercule de *Phajus grandifolius*. A, C, D et E, vus de profil; B, vu de dessus (d'après Strasburger). Gros. 540.

Un intérêt tout particulier s'attache pour nous aux corps amylogènes, les leucoplastes, qui, comme Schimper (1) l'a montré, ont pour fonction de régénérer des grains d'amidon aux dépens des hydrates de carbone dissous, en voie de circulation ou déjà parvenus aux dépôts de matières nutritives de réserves. Les plus beaux et les plus volumineux leucoplastes connus se rencontrent dans le tubercule du *Phajus grandifolius*. On peut se procurer cette orchidée, au prix de 3 marcs, chez MM. Haage et Schmidt, à Erfurt. Nous choisirons pour nos observations un tubercule pas trop âgé, que nous partagerons en deux. Nous y pratiquerons ensuite des sections transversales minces atteignant la

(1) Voy. Schimper, *Botan. Zeitung*, 1880, n° 52.

surface verte de l'organe. Je sais, par expérience personnelle, qu'il est bon de les transporter rapidement dans l'acide picrique concentré et de les examiner dans ce réactif. Les leucoplastes des cellules qui se trouvent dans les portions intérieures des préparations, sont incolores; vers l'ex-

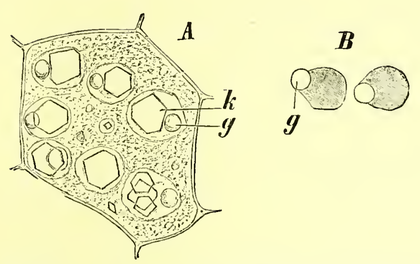


Fig. 33. — Coupe dans l'albumen du *Ricinus communis*. A, cellule et son contenu examinés dans l'eau ; B, grains d'aleurone isolés vus dans l'huile d'olives ; *g*, le globoïde ; *k*, le cristalloïde (d'après Strasburger). Gros. 540.

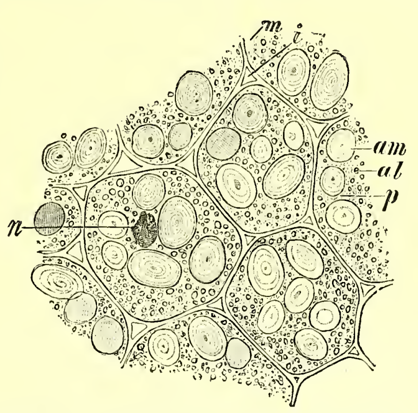


Fig. 34. — Coupe dans le cotylédon du pois. *m*, membrane cellulaire; *i*, espace intercellulaire ; *am*, amidon ; *al*, grains d'aleurone ; *p*, substance fondamentale ; *n*, noyau cellulaire, après l'action du vert de méthyle acétique (d'après Strasburger). Gros. 540.

térieur, les leucoplastes sont plus volumineux, mais leur substance fondamentale protoplasmique est imprégnée de chlorophylle. Vus de profil, les leucoplastes offrent la forme de bâtonnets (voy. fig. 32). Sous l'action de l'acide picrique, ils prennent une couleur jaunâtre, tandis que les grains d'amidon, plus ou moins grands, qui leur sont adjacents, demeurent incolores.

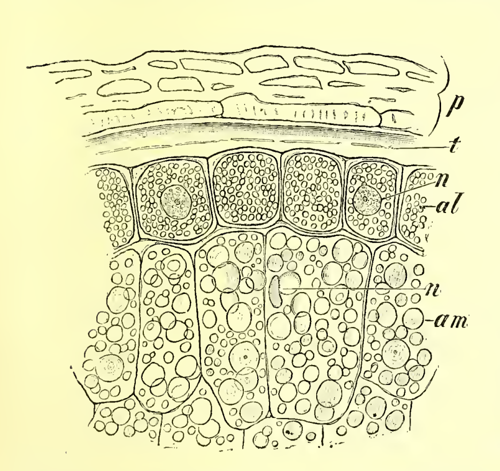


Fig. 35. — Coupe tranversale dans un grain de blé (*Triticum vulgare*). *p*, débris de l'ovaire ; *t*, enveloppe de la graine. Elle recouvre l'albumen, dont les cellules contiennent des grains d'aleurone *al*, et des grains d'amidon *am* ; *n*, noyau cellulaire (d'après Strasburger). Gros. 540.

Nous allons examiner maintenant les formations protoplasmatiques d'organes végétaux à l'état de vie latente, et nous nous occuperons surtout de la forme qu'affectent dans la graine les matières protéiques de réserve. Nous sectionnerons en deux une semencé de lupin. Après avoir humecté les surfaces de section, nous détacherons des sections transversales minces que nous examinerons dans l'eau. Les cellules montrent de petits grains protéiques ou d'aleurone exactement serrés les uns contre les autres, dont la forme a été quelque peu modifiée par l'action de l'eau.

Pour voir les grains avec leur forme naturelle, on se servira de glycérine. Ils se montrent alors très réfringents et ressemblent à première vue à de petits grains d'amidon. Les grains d'aleurone sont englobés dans la substance fondamentale protoplasmique. Les cellules de l'albumen du ricin fournissent de volumineux grains d'aleurone englobés dans une substance fondamentale huileuse. Les coupes dans l'albumen s'obtiennent très facilement. Elles peuvent être examinées dans l'eau, dont l'influence destructive ne se fait sentir que très lentement. Si on dépose une goutte de teinture d'iode sur le bord de la lamelle, les grains d'aleurone prennent une couleur jaune; ils partagent d'ailleurs les réactions des matières albuminoïdes.

L'albumen du *Bertholletia excelsa* (noix de Para) fournit des coupes très instructives. Lorsqu'on fait arriver de l'alcool absolu dans une préparation à l'eau, les enclaves des grains d'aleurone se détachent très nettement. (Elles ont été figurées par Pfeffer dans *Pringsheim's Jahrbüchern f. wissensch. Botanik*, vol. 8, pl. 36, fig. 16 et 17.) Elles comprennent à la fois les cristalloïdes, relativement grands chez le *Bertholletia*, et les globoïdes : phosphate copulé de magnésie et de chaux. Dans une solution d'acide osmique à 1 % (solution aqueuse qui doit être conservée dans l'obscurité), les cristalloïdes se montrent avec beaucoup de netteté, parce qu'ils ne se colorent en jaune qu'après une action prolongée du réactif, tandis que le restant du contenu des cellules prend rapidement une coloration foncée. On peut aussi montrer la présence de cristalloïdes et de globoïdes dans les grains d'aleurone du ricin, en traitant par l'alcool ou, mieux encore, par l'acide osmique de fines coupes de l'albumen (voy. fig. 33).

Nous pratiquerons ensuite de fines sections transversales dans les cotylédons d'une graine mûre et sèche de pois. Sur la surface de section, nous déposerons de la glycérine et nous examinerons la coupe dans la glycérine étendue d'un tiers d'eau distillée. L'image que nous observerons au microscope est représentée par la fig. 34. Nous verrons des cellules arrondies laissant entre elles des espaces intercellulaires triangulaires. Dans les cellules se trouve une substance fondamentale très finement granuleuse englobant des grains d'amidon assez volumineux et des petits grains d'aleurone. Si nous faisons agir sur la coupe une solution d'iode, les grains d'amidon se coloreront en bleu, la substance fondamentale et les grains d'aleurone, constitués essentiellement par des substances albuminoïdes, prendront une coloration jaune. Si on porte de fines coupes détachées des cotylédons du pois dans le vert de méthyle acétique, on remarquera dans chaque cellule la présence d'un noyau cellulaire coloré en bleu verdâtre.

Nous pratiquerons des coupes dans un grain de blé mûr en humectant continuellement la surface de section avec de la glycérine. Ces coupes examinées dans ce liquide montrent une couche de cellules rectangulaires, appliquées exactement contre les enveloppes du fruit et de la

graine dont il sera question en un autre endroit. Ces cellules ne contiennent pas de grains d'amidon, mais un grand nombre de petits grains d'aleurone. Les cellules du tissu sous-jacent renferment énormément d'amidon (voyez fig. 35).

II. — DESTRUCTION DE LA STRUCTURE MOLÉCULAIRE DES FORMATIONS VÉGÉTALES ORGANISÉES.

44. Effet des basses températures sur les plantes.

Les plantes se comportent d'une manière très variable aux basses températures. Certains végétaux (un grand nombre de lichens, de mousses, de bactéries et de plantes supérieures, comme, par exemple, le *Bellis perennis*, le *Stellaria media*, etc.) ne sont pas tuées par un froid de — 6 à — 8° C. et sont rapidement dégelées. J'ai placé en hiver des feuilles de *Primula elatior* dans des vases en verre qui, après leur fermeture, étaient déposés dans un récipient contenant un mélange réfrigérant formé au moyen de neige et de sel marin. Ces feuilles qui avaient été exposées pendant 6 heures à une température de — 5 à — 8° C., furent rapidement dégelées par immersion dans de l'eau possédant une température de 6° C. Elles continuèrent de vivre après le dégel.

Soumis, à l'air libre ou dans un vase entouré d'un mélange réfrigérant, à une température de — 6° C. les tubercules de pomme de terre sont complètement gelés et rendent un son dur. Les feuilles de crassulacées, de chou, de colza et de fèves, par exemple, soumises à une température de —6° C., acquièrent, par suite de leur congélation, la dureté de la glace. Après leur dégel par immersion dans l'eau, on remarque que les tubercules et les feuilles sont tués. Ils présentent les caractères particuliers aux plantes gelées, indiqués dans le § 45.

J'ai eu l'occasion de constater, à la suite de nombreuses expériences, qu'après leur dégel, les tubercules de pomme de terre dont les tissus ont été certainement gelés, sont toujours tués : que ce dégel se soit effectué lentement ou rapidement. On porte quelques tubercules de pomme de terre avec de l'eau dans un vase aussi grand que possible afin que la congélation des tubercules se fasse lentement et on les expose à une température de — 6° C. Le dégel des matériaux d'étude pourra être produit d'une manière très lente aussi en déposant le vase dans une chambre dont la température est de + 1 à —2° C. Les tubercules dégelés — j'ai obtenu le même résultat avec des feuilles d'*Escheveria* — étaient tués. J'ai déterminé également la congélation dans l'eau d'un certain nombre de *Zannichellia palustris*, qui, sous l'influence de la lu-

mière dégageaient une grande quantité d'oxygène. Après le dégel, ils avaient perdu la faculté d'assimiler : ils étaient tués.

Il est très instructif de soumettre, à l'air ou dans une chambre, à une température de — 5 à — 10° C., des feuilles de *Begonia manicata* dont le pétiole est plongé dans l'eau et dont la lame est mise sous une cloche en verre Par suite de leur congélation, les feuilles prennent une couleur pâle, et cette coloration n'est plus modifiée par le dégel. Les basses températures provoquent la désorganisation du protoplasme, de sorte que le suc cellulaire, qui est acide, peut agir sur les corps chlorophylliens et décomposer leur pigment. Des coupes de feuilles gelées de *Begonia manicata* laissent voir au microscope que les grains de chlorophylle ne possèdent plus leur couleur verte normale, mais une coloration jaunâtre. L'expérience qui précède est surtout intéressante parce qu'elle permet de montrer directement que le changement de coloration des feuilles indique déjà que la congélation a déterminé la mort de leurs cellules (1).

Divers physiologistes ont pu montrer que certains organes végétaux supportaient l'action de la gelée lorsqu'ils étaient plus ou moins desséchés, et ne pouvaient, sans en souffrir, subir les effets de la congélation lorsqu'ils contenaient beaucoup d'eau (2). On peut aisément le constater au moyen de graines, desséchées à l'air ou gonflées, de *Phaseolus*, *Pisum*, *Triticum*, etc. Si, comme j'ai eu l'occasion de le faire, on porte dans de petits vases pendant 15 heures et à une température de — 10° C. : d'une part, des grains de froment desséchés à l'air; d'autre part, des grains qui ont été plongés dans l'eau pendant 7 heures, on remarque que les premiers, placés sur du sable humide, dans des conditions convenables de végétation, pourront encore germer, tandis que les autres, incapables de germer, ne tarderont pas à mourir (3).

L'ensemble des expériences entreprises démontre clairement que les divers organes végétaux et les mêmes matériaux d'étude placés dans des conditions différentes ne possèdent pas la même sensibilité vis-à-vis des basses températures.

45. Les modifications qu'éprouvent les plantes sous l'action du gel.

L'expérience prouve que les membranes cellulaires ne sont jamais déchirées par suite du gel des plantes. En déterminant la congélation de filaments de *Spirogyra*, par exemple, déposés dans une goutte d'eau sur un porte-objet, on n'observe point, après le dégel, de déchirures dans les membranes cellulaires. On sait également que les espaces

(1) Voy. DETMER, *Botanische Zeitung*, 1886, n° 30.

(2) Voy. DETMER, *Vergleichende Physiologie d. Keimungsprocesses d. Samen*, 1880, p. 392.

(3) Voy. SACHS, *Versuchsstationen*, 1860, *Berichte d. sachs Gesellschaft d. Wiss.* 1860, vol. 12, p. 27, et Flora, 1862; GOPPERT, *Wärmeentwickelung in d. Pflanze*, 1830.

intercellulaires, etc., contiennent d'ordinaire seuls des cristaux de glace dans les tissus congelés, et qu'il n'en existe pas à l'intérieur des cellules.

Le gel doit être nécessairement attribué à une destruction de la structure moléculaire du protoplasme. Ce qui le prouve, c'est que le protoplasme tué par congélation perd son imperméabilité normale pour les matières colorantes, les acides, etc.

Des fragments de betterave gelés sont déposés dans de l'eau à la température ordinaire. Celle-ci s'emparera d'une grande quantité de la matière colorante rouge. Cette substance ne s'échappe cependant point des cellules des morceaux de betterave non gelés et plongés dans l'eau après lavage. Les tubercules de pomme de terre gelés donnent sous une légère pression une grande quantité de liquide; les cellules ont perdu leur turgescence par suite de la désorganisation du protoplasme. Il en est de même des cellules des feuilles gelées, suspendues lâchement et presque desséchées, Ce phénomène s'observe très bien sur les feuilles gelées de *Begonia* et d'*Escheveria*.

En déterminant successivement le gel et le dégel de l'empois d'amidon, on obtient une masse spongieuse dans les pores de laquelle se trouve un liquide. L'arrangement moléculaire est détruit, et cette expérience peut, jusqu'à un certain point, rendre compte des phénomènes qui se produisent dans le protoplasme des cellules végétales congelées.

46. La formation de glace dans les plantes gelées.

Une coupe, de quelques centimètres d'épaisseur, pratiquée dans une betterave, est convenablement lavée, puis desséchée. On la dépose ensuite dans un vase, que l'on recouvre d'une lame en verre pour éviter l'évaporation de l'eau, et on la soumet à une température de — 6° C. environ. Quand l'objet sera complètement gelé, sa surface supérieure sera recouverte d'une croûte de glace qui, au microscope et à une température inférieure à 0° C , se montre formée par des aiguilles de glace serrées côte à côte. La glace est particulièrement abondante sur la face inférieure de la coupe, aux endroits où cette coupe a touché le fond du vase. Cette glace n'étant point colorée en rouge, il en résulte que ce n'est pas le suc cellulaire qui a subi la congélation, mais l'eau presque pure provenant des cellules.

Dans certaines circonstances, il peut, évidemment, se former de la glace dans les cellules des organes végétaux gelés; mais d'ordinaire, pendant la congélation, l'eau passe dans les espaces intercellulaires ou dans d'autres cavités des tissus et s'y engourdit. On enlève la partie supérieure d'une grande betterave, puis, à l'aide d'une ficelle, on assujettit la portion coupée à sa place primitive, après avoir pratiqué dans la partie inférieure de la betterave une cavité peu profonde. Si

on soumet alors la plante pendant longtemps à un froid d'environ — 8° C., la cavité recueillera une grande quantité de glace (1).

La marche de la température dans les organes végétaux gelés est très instructive. Elle a été étudiée pour la première fois par Müller-Thurgau. J'ai employé pour ce genre de recherches l'appareil que représente la fig. 36. Sous la cloche tubulée Gg, se trouve un anneau en verre Gr qui reçoit l'objet soumis à l'expérimentation, un tubercule de pomme de terre K, par exemple. A l'aide d'un perce-bouchons, on y pratique une assez large ouverture qui atteint le milieu du tubercule et qui, après avoir été essuyée au moyen de papier à filtrer, reçoit le réservoir cylindrique d'un bon thermomètre T. Il y a avantage à se servir d'une cloche possédant deux tubulures et pouvant, par conséquent, recevoir un second thermomètre, qui servira à mesurer la température du milieu dans lequel le tubercule aura été placé. Tout l'appareil sera disposé dans un grand vase, et les recherches se feront dans un lieu froid. Ce vase permettra d'entourer la cloche d'un mélange réfrigérant (neige et sel marin). De cinq en cinq minutes, on lira les indications fournies par le thermomètre. La température du tubercule descend peu à peu à — 3 et — 4° C. Mais alors, elle s'élève subitement jusqu'à 1° C. environ, se maintient assez constante pendant longtemps, pour s'abaisser de nouveau jusqu'à atteindre la température de l'air ambiant, à peu près — 5° C.

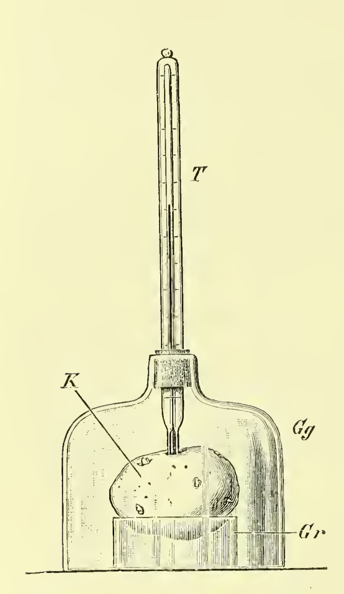


Fig. 36. — Appareil pour montrer la marche de la tempéraure dans les tubercules de pomme de terre gelée.

Lorsque les tubercules de pomme de terre sont exposés à une température inférieure à 0°, il y a d'abord refroidissement des tissus sans formation de glace. Dès que le maximum de refroidissement est atteint, la congélation, se produit subitement et la chaleur mise ainsi en liberté fait monter la température du tubercule jusqu'à son point de congélation, c'est-à-dire à peu près 1° C. La température du tubercule s'abaisse alors peu à peu, et devient égale à celle de l'air ambiant. Les autres organes végétaux se comportent d'une façon semblable. J'ai enroulé, par exemple, la lame foliaire d'un *Begonia* (*B. manicata*) autour du réservoir à mercure d'un thermomètre, sur lequel je l'assujettissais au moyen d'une ficelle. En soumettant au refroidissement, j'ai pu constater que le maximum de refroidissement était situé vers — 4° 8 C.,

(1) Voy. concernant ce qui a été dit et ce qui va suivre : Müller-Thurgau, *Landwirth. Jahrbücher*, vol. 9, p. 133.

et le point de congélation à — 0,8° C. Dès que cette dernière température était atteinte, la feuille était décolorée (voy. § 44).

Pour concevoir que des organes végétaux soumis à des températures inférieures à 0° ne subissent qu'un refroidissement, et que leur point de congélation n'est pas 0°, mais une température plus basse, il suffira de se rappeler l'influence du gel sur les dissolutions salines et sur l'eau retenue par capillarité contre des corps solides. Dans les cellules végétales, on ne trouve pas de l'eau pure, mais une solution aqueuse de différentes substances, et les formations végétales organisées retiennent l'eau. L'eau pure se congèle à 0°, mais une solution aqueuse (de sel marin, par exemple), demande une température plus basse. Les solutions de sel marin, suivant leur degré de concentration, peuvent être refroidies plus ou moins considérablement avant de se congeler. La température des solutions s'élève alors subitement jusqu'à atteindre le point de congélation qui leur est propre et qui est toujours inférieur à 0°. On pourra aisément, par des expériences convenables, démontrer ces principes. Pour étudier l'action du gel sur l'eau retenue par capillarité, j'ai enveloppé, comme dans l'expérience de Müller-Thurgau, le réservoir à mercure d'un thermomètre de papier à filtrer que je trempais dans l'eau et que j'essuyais ensuite extérieurement. Soumis à une basse température, sous une cloche en verre entourée d'un mélange réfrigérant, la température du papier à filtrer descendit peu à peu jusqu'à — 3° C. environ (maximum de refroidissement), puis s'éleva brusquement jusqu'à 0° C. environ.

L'eau qui se trouve dans les solutions et celle qui est retenue contre les corps solides par capillarité — et l'eau, dans la plante, se rencontre dans de pareilles conditions — ne se congèle par conséquent pas à 0° C., comme l'eau pure, mais à des températures inférieures. L'état d'équilibre entre les particules d'eau et les particules du sel ou du corps solide n'est détruit qu'à des températures inférieures à 0°, ce qui permet à la congélation de se produire. Il se dégage évidemment pendant le gel une quantité considérable de chaleur, mais la température des dissolutions salines ou celle du corps solide imbibé d'eau n'atteint pas tout à fait 0° C., parce qu'une certaine quantité de chaleur est employée pendant la congélation à rompre l'adhérence des particules d'eau contre les particules du sel ou du corps solide.

47. La mort des plantes sous l'action de températures trop élevées.

On emploie d'abord comme matériaux d'étude des jeunes plantes de *Zea*, de *Nicotiana*, de *Cucurbita*, de *Phaseolus* ou de *Tropæolum*, cultivées en pots. Ces plantes peuvent servir aux expériences dès qu'elles ont développé quelques feuilles. L'air contenu sous la cloche d'un thermostat est amené ensuite à la température dont on veut étudier l'action sur

les plantes. Lorsque cette température est devenue constante, une plante est introduite dans le thermostat. On attend que la température dont on veut étudier l'influence soit rétablie dans l'appareil, et on abandonne les plantes à cette température pendant un certain temps. Un thermomètre est enfoncé dans la terre du pot, un autre est suspendu sous la cloche de manière à toucher la partie aérienne de la plante. Les expériences peuvent être faites de diverses façons. Nous exposerons, par exemple, une plante pendant une demi-heure dans une atmosphère dont la température est de 40 ou 45° C., ou nous la mettrons dans l'appareil pendant 10-30 minutes à une température de 52° C. Les plantes seront alors retirées du thermostat et placées dans leurs conditions normales de vie, afin d'observer les conséquences de l'expérience. Les plantes supportent d'ordinaire sans inconvénients un séjour d'une demi-heure dans l'air chauffé à 40-45° C., mais elles sont généralement tuées par un séjour de 10-30 minutes dans l'air chauffé à 52° C. Il est d'ailleurs à remarquer que la mort n'arrive pas immédiatement après leur séjour de 10 minutes dans une atmosphère dont la température est trop élevée, comme par exemple 52° C. ; ce n'est le plus souvent qu'au bout de quelques jours que les plantes meurent. Les feuilles qui viennent d'achever leur développement, se décolorent peu à peu; les vieilles feuilles, les entrenœuds ainsi que les bourgeons ne périssent que plus tard. Lorsqu'on veut faire avec exactitude des recherches comparées sur l'influence que les hautes températures exercent sur les plantes, il est nécessaire de répéter plusieurs fois chaque expérience à une température déterminée et de faire usage, dans chaque expérience, d'une plante qui n'a pas encore été employée et qui se trouve, par conséquent, dans des conditions tout à fait normales. On se gardera ainsi des erreurs. Il serait instructif également de placer des plantes pendant longtemps (quelques heures et même des jours) dans le thermostat à une température relativement basse (35-40° C. par exemple), pour observer ensuite les conséquences de ce séjour.

Les plantes ne peuvent supporter sans inconvénients un séjour de 10 minutes (ou un peu plus long) dans l'air chauffé à 52° C., mais des températures d'environ 45 à 48° C. sont mortelles en 10 minutes aux matériaux d'étude plongés dans l'eau. Pour démontrer ce fait, on plonge dans l'eau chauffée à cette température la partie aérienne d'une plante cultivée en pot, après avoir pris la précaution d'empêcher la terre de s'échapper du pot. La température sera maintenue constante pendant toute la durée de l'expérience, et, après 10 minutes, on retirera la plante pour observer les suites de son immersion.

Pour étudier l'action de l'eau à de hautes températures sur les plantes, on peut aussi expérimenter avec des organes végétaux détachés, avec des feuilles par exemple. J'ai employé entre autres, pour des recherches de ce genre, des feuilles de *Begonia manicata* et de *Vitis vinifera*. Ces feuilles constituent des matériaux d'étude très convenables,

parce qu'elles subissent un changement sensible de coloration lors de la mort des cellules. Une immersion de 15 minutes dans l'eau à 40° C. ne tue pas les cellules des feuilles de *Begonia*. Ces mêmes feuilles plongées dans l'eau à 75° C. changent presque aussitôt de coloration et sont par conséquent tuées. L'eau à 55° C. tue les feuilles dans l'espace de deux minutes.

Pour constater ce fait important que les organes des plantes, surtout les graines, résistent beaucoup mieux à l'action de la chaleur lorsqu'ils sont à l'état sec que lorsqu'ils sont imbibés d'eau, on emploiera l'appareil que représente la fig. 37. Le vase cylindrique B est rempli d'eau. Le large bouchon qui le ferme possède plusieurs ouvertures. L'une d'elles reçoit le thermomètre T, et les deux autres, un tube à réactions (P et P'). L'ouverture de ces tubes est fermée à l'aide d'un bouchon traversé aussi par un thermomètre. Tout l'appareil est suspendu à un anneau métallique et plongé dans l'eau d'un bain-marie. On chauffe ensuite avec une lampe à gaz ou à alcool, jusqu'à ce que les thermomètres des tubes à réactions indiquent que la température à laquelle on veut expérimenter est atteinte (50, 60 ou 70° C. par exemple). Dans un des tubes à réactions, on porte des graines sèches; dans l'autre, des graines gonflées. On emploie, par exemple, 50 à 100 graines de *Pisum*, de *Zea* ou de *Triticum* pour les exposer à une température maintenue constante pendant quelque temps (une heure par exemple). Les graines seront déposées ensuite sur de la sciure humide et placées dans des conditions favorables pour la germination. Une partie des graines sèches qui avaient été chauffées, entraient en germination; les graines gonflées, incapables de germer, ne tardaient pas à périr.

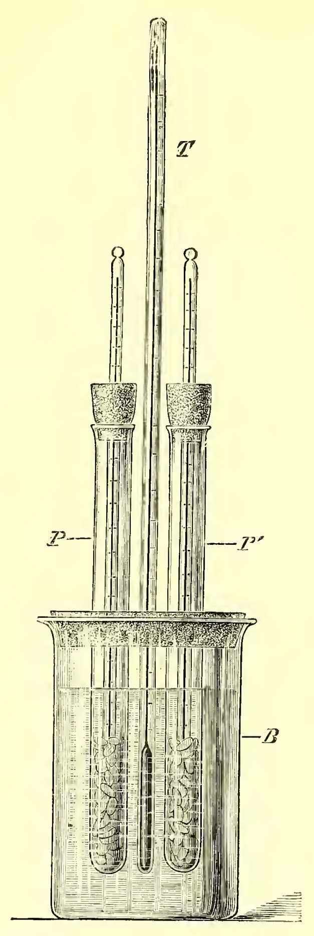


Fig. 37. — Appareil pour montrer l'action des hautes températures sur les graines.

Des graines de *Pisum*, de *Zea* ou de *Triticum* desséchées à l'air peuvent être exposées pendant une heure à des températures, de 65 ou 70° C. sans perdre la faculté de germer; mais celle-ci est évidemment plus ou moins diminuée. Après avoir exposé, pendant une heure, à une température de 62° C., des graines de froment desséchées à l'air, j'ai constaté que la proportion des graines capables de germer n'était pas

négligeable. Des graines de froment gonflées que j'avais exposées pendant une heure à une température de 62° C., périrent pendant les essais de culture (1).

48. Les altérations que subissent les plantes lorsqu'elles sont tuées par des températures trop élevées.

Dans l'eau à 50° C., on plonge pendant peu de temps (à peu près une minute) une jeune feuille provenant d'un bourgeon d'*Elodea canadensis*, dans les cellules de laquelle on a constaté l'existence d'un vif courant protoplasmique. Sous l'influence de cette température élevée, le courant protoplasmique est arrêté instantanément et ne se rétablit plus, même longtemps après. L'objet soumis à l'expérimentation a subi une désorganisation qui l'a tué.

Un grand nombre de feuilles (j'ai expérimenté, notamment, sur des feuilles de chou) n'éprouvent pas de changement sensible dans leur coloration, lorsqu'on les plonge pendant quelque temps dans l'eau chauffée à une température élevée (60° C. par exemple). Les feuilles meurent cependant très rapidement dans l'eau chaude; leurs cellules perdent leur turgescence et l'organe devient mou. Elles ne peuvent pas non plus regagner leur turgescence normale. On plonge dans l'eau chaude des feuilles dont les cellules ont un contenu fort acide (d'après mes expériences personnelles, les feuilles de *Begonia manicata* et de *Vitis vinifera* constituent des matériaux d'étude remarquables). Ces feuilles seront bientôt décolorées. Par suite de la destruction du protoplasme, les corps chlorophylliens se trouveront en contact avec le suc cellulaire fort acide, et celui-ci décomposera le pigment chlorophyllien. Les feuilles de *Begonia* plongées dans l'eau à 55° C. sont décolorées au bout de 2 minutes; dans l'eau à 75° C., elles perdent presque instantanément leur couleur verte. L'examen au microscope de coupes tangentielles de feuilles tuées de *Begonia manicata* montre, en effet, que les grains de chlorophylle ne sont plus colorés en vert, mais en brun.

D'après mes expériences, on peut facilement constater, par la méthode qui va suivre, que le protoplasme, tué par des températures trop élevées perd sa constitution normale, ce qui permet à la diosmose des acides du suc cellulaire de s'effectuer aisément. Un fragment vivant du pétiole d'une feuille de *Begonia manicata* est déposé dans l'eau distillée. Un autre morceau du même pétiole est tué par immersion dans l'eau à 60° C. Lorsqu'il sera décoloré, on le plongera rapidement dans l'eau distillée. Dans cette eau ainsi que dans celle qui a reçu le fragment de pétiole vivant, on verse une petite quantité d'une solution de chlorure

(1) Bibliographie : Sachs, *Flora*, 1864, p. 5, et *Handbuch d. Experimentalphysiologie d. Pflanzen*, 1865, p. 64. Voy. aussi : Detmer. *Vergleichende Physiologie d. Keimungsprocesses d. Samen*, 1880, p. 401; Hohnel, in *Wissenschl.-prakt. Untersuchungen auf d. Gebiete d. Pflanzenbaues* de Fr. Haberlandt, vol. 2, p. 77, et Detmer, *Botan. Zeitung*, 1886, n° 30.

de calcium, après avoir enlevé les morceaux de pétiole. Le premier de ces liquides reste clair; l'autre, qui contenait le morceau de pétiole tué, devient trouble par suite de la précipitation d'oxalate de calcium. Le protoplasme tué est devenu perméable à l'acide oxalique du suc cellulaire et l'a laissé échapper à l'extérieur, dans l'eau ambiante.

Des poils staminaux d'un *Tradescantia* sont tués par immersion dans l'eau à 55 ou 60° C., puis déposés dans une goutte d'eau sur un porte-objet et examinés. On observe que le pigment rouge ou violet du suc cellulaire se rend dans l'espace compris entre le protoplasme et la membrane cellulaire; puis, finalement, il passe aussi à travers cette dernière et se répand dans l'eau ambiante. Le protoplasme normal est imperméable aux matières colorantes. On essuie soigneusement des morceaux de betteraves fraîches, pour enlever le suc cellulaire qui s'échappe des cellules coupées, et on les met dans l'eau. Celle-ci ne leur enlève point leur matière colorante, même après un séjour de plusieurs heures. Mais si les cellules de betteraves ont été au préalable tuées sous l'action de hautes températures, elles laisseront échapper rapidement leur matière colorante dans l'eau à la température ordinaire. On place dans du jus rouge de betteraves, des morceaux de navets, les uns frais, constitués donc par des cellules vivantes, les autres formés de cellules tuées par immersion dans l'eau à 60° C. Au bout de 24 heures, la matière colorante n'aura pas pénétré dans les premiers, tandis que les derniers seront tout à fait colorés en rouge. Dans le § 55, il sera question aussi des remarquables propriétés de la couche membraneuse du protoplasme.

49. Destruction de la structure moléculaire par des actions mécaniques.

On sait généralement que si les organes végétaux peuvent subir une faible pression ou un léger froissement sans éprouver de dommage, leur structure moléculaire est détruite par des actions mécaniques énergiques. Pour faire ressortir ce fait, on peut cependant effectuer encore quelques expériences qui ne sont pas tout à fait dénuées d'intérêt.

Dans l'eau à 15-20° C., on jette une petite quantité d'amidon de pomme de terre. Une égale quantité d'amidon, après avoir été broyée le plus convenablement possible dans un mortier avec du sable quartzeux pur, sera aussi jetée dans l'eau. Après quelques heures de repos, on filtre les deux liquides. Dans le premier, l'iode ne décèle pas la présence de granulose; dans le second, on observe que l'eau a enlevé de la granulose à l'amidon broyé avec du sable. L'action mécanique a détruit la structure moléculaire des grains d'amidon et donné de la granulose au liquide; celui-ci n'en reçoit point des grains intacts.

Les tissus de la lame foliaire du *Begonia manicata* serrés violemment entre les doigts prennent aussitôt une couleur brune aux endroits pressés. L'examen microscopique de sections tangentielles pratiquées aux

endroits pressés montre que les grains de chlorophylle des cellules, d'un beau vert à l'état normal, sont décolorés. La pression a amené la mort des éléments constituants protoplasmatiques des cellules. Ces derniers sont devenus perméables au suc cellulaire acide, et celui-ci a décomposé le pigment chlorophyllien (1).

50. Influence de la dessiccation sur les organes végétaux.

Les bourgeons verts cueillis, auxquels on ne fournit point d'eau, ne tardent pas à se flétrir. Lorsque ce flétrissement est fort avancé, il est impossible de les ramener à leur état normal par l'addition d'eau. Les bourgeons peu flétris, au contraire, se rétablissent souvent lorsqu'on leur fournit de grandes quantités d'eau.

Pour étudier l'influence de la dessiccation sur les graines et les germinations, on emploiera des semences de froment ou de pois. Une partie de ces matériaux d'étude seront déposés dans des cristallisoirs et exposés à l'action desséchante de l'air, après avoir gonflé pendant 24 heures; une autre, immédiatement après la sortie de la radicule ou après s'être plus ou moins développés. Lorsque les graines ou les germinations seront desséchées à l'air, on les placera dans la sciure de bois humide pour observer quelles seront les conséquences de l'expérience. Les graines gonflées n'auront que peu souffert de la dessiccation et il en sera de même des matériaux d'étude dont le développement de la radicule était peu avancé. Mais sur les germinations quelque peu plus développées, l'influence de la dessiccation se fera remarquer par la mort des parties jeunes des germinations. Elles seront remplacées, lorsqu'on rendra de l'eau aux germinations, par la formation de racines adventives et le développement des bourgeons axillaires existants. Les germinations plus avancées sont ordinairement tuées par la dessiccation (2).

J'ai fait une série d'observations sur l'énergie de la respiration chez des germinations plus ou moins flétries, mais contenant cependant encore une quantité d'eau assez importante, et chez des matériaux d'étude se trouvant dans des conditions normales (3). On expérimente sur une trentaine de germinations de pois, d'après la méthode qui sera exposée dans la troisième division. On détermine la quantité d'anhydride carbonique expiré par les germinations pendant deux ou trois heures sous une température constante. Les matériaux seront alors privés d'eau pendant quelques jours, et on examinera de nouveau leur énergie respiratoire sous la même température que précédemment.

(1) Voy. Detmer, *Botanische Zeitung*, 1886, n° 30.
(2) Voy. Nowoczck, in *Wissenschl. prakt. Unters. auf d. Gebiete d. Pflanzenbaues* de Haberlandt, fasc. 1, p. 122.
(3) Voy. Detmer, *Landwirthschl. Jahrbücher*, vol. 11, p. 230.

Cette énergie sera considérablement diminuée. D'après mes observations, les graines desséchées à l'air ne donnent aucun dégagement appréciable d'anhydride carbonique.

51. Action de l'électricité sur les plantes.

L'action de l'électricité sur les plantes est relativement peu connue, surtout dans ses détails (1). Un fait, notamment, semble intéressant au point de vue physiologique : c'est que les courants constants et les courants d'induction ne sont point sans influence sur les mouvements protoplasmiques; ils ralentissent d'ordinaire leur marche ou arrêtent complètement leur mouvement, et finalement amènent la mort des cellules.

Pour étudier ces phénomènes, on emploiera des jeunes feuilles d'*Elodea* ou des poils de courge provenant des parties les plus jeunes. Les matériaux d'étude seront soumis à l'observation microscopique, placés dans une goutte d'eau sur le porte-objet que représente la fig. 38, et recouverts d'une lamelle.

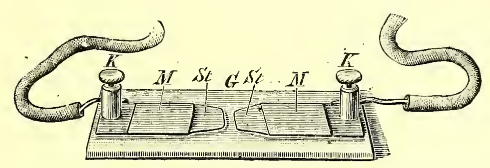


Fig. 38. — Porte-objet pour expérimenter l'action du courant électrique sur les organes végétaux.

C'est à mon collègue, M. Fromman, que je dois de connaître ces porte-objets. Sur la lame de verre G, se trouvent fixées deux lames de laiton M, M au moyen d'asphaltlack (dissolution d'asphalte dans l'essence de thérébentine). A chaque lame de laiton, est soudée une borne K. Les deux petites lames de papier d'étain St, St sont réunies, au moyen d'asphaltlack, aux lames de laiton et fixées sur le verre. Elles laissent entre elles un certain espace libre qui reçoit la goutte d'eau contenant l'objet à examiner. Pour étudier l'action de courants d'induction sur les cellules végétales, on visse sur le porte-objet les extrémités des rhéophores de l'appareil à induction; ce qui permet de faire des observations au microscope pendant que les courants exercent leur action sur les cellules. Il est important de pouvoir régulariser la force du courant dans les observations microscopiques, c'est pourquoi on emploiera les appareils d'induction que les mécaniciens fabriquent pour les usages médicaux. Ces appareils sont d'ordinaire disposés dans une caisse appropriée, rassemblant les éléments qui fournissent le courant. On peut aussi régulariser la force du courant au moyen de l'appareil à glissière de Du Bois-Reymond (2). Pour faire fonctionner cet appareil, on réunit les extrémités des fils

(1) Des données sur la bibliographie sont rassemblées en divers endroits dans le *Handbuch der Pflanzenphysiologie* de PFEFFER.

(2) Voy. pour les figures : *Lehrbuch d. Physik und Meteorologie*, de MÜLLER, 8e édition (PFAUNDLER), vol. 3, p. 628.

conducteurs de la bobine principale avec l'appareil moteur et le rhéotome, et on fera communiquer la bobine secondaire avec les bornes du porte-objet. J'ai trouvé, dans des recherches sur des feuilles d'*Elodea*, que de faibles courants d'induction suspendaient le mouvement protoplasmique qui, après l'arrêt du courant, recommençait peu à peu. De forts courants d'induction arrêtaient pour toujours le mouvement protoplasmique dans les cellules. Comme les forts courants tuent les cellules et que le protoplasme mort est facilement reconnaissable à sa perméabilité pour diverses substances qui ne parviennent pas à le traverser lorsqu'il est vivant (les matières colorantes, par exemple), il était intéressant de faire agir des courants électriques sur les poils des filets staminaux de *Tradescantia*. La mort des cellules devait être aisément établie par la sortie de la matière colorante du suc cellulaire, c'est-à-dire des cellules. Dans les recherches sur l'influence qu'exerce le courant électrique dans les cellules végétales, on observera attentivement les changements de forme que subit le protoplasme sous l'action du courant.

Il sera instructif de faire ensuite l'expérience qui va suivre (1). On place sur une lame de verre deux fragments de feuille de *Begonia manicata*, possédant une longueur de quelques centimètres. On envoie alors, pendant 15 minutes environ, un courant d'induction, pas trop faible, en plaçant les électrodes (petites pièces métalliques) sur les deux extrémités de la bande foliaire. Le second morceau de feuille servira de témoin. On place les deux bandes foliaires dans un vase en verre fermé. Le morceau qui n'a pas été électrisé reste vert et frais; celui qui a été électrisé brunit immédiatement, perd sa turgescence et devient mou, car le courant d'induction a tué ses cellules.

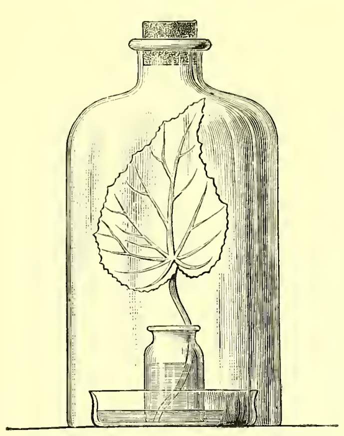
52. Action des poisons sur les plantes.

Les graines constituent des matériaux d'étude convenables pour décider si une substance donnée peut exercer une action nocive sur les cellules végétales. Il faut évidemment se garder de conclure qu'une substance doit être considérée comme un poison pour tous les végétaux, parce qu'elle peut, dans une espèce végétale, nuire à la vie ou même la détruire. Pour examiner l'action sur les plantes du sublimé-corrosif, du sulfate de cuivre, de l'acide salicylique, de l'acide phénique, de l'acide citrique, de l'atropine, du chlorure de quinine, du sel marin, etc., on se procure des solutions à 0, 1 —, 0, 2 —, 0, 5 — 1, 0 %, que l'on verse dans de petits vases en verre (on peut également faire usage de solutions plus étendues ou plus concentrées). Dans ces liquides, on mettra un certain nombre, pas trop petit, de semences de pois. Après 24 heures, les matériaux d'étude gonflés, seront déposés

(1) Voy. Detmer, *Botan. Zeitung*, 1886, n° 30.

dans une petite quantité d'eau contenue dans des cristallisoirs ou placés sur de la sciure humide. On compte le nombre de graines qui ont germé pendant un temps déterminé et on compare la longueur des germinations avec celle qui a été atteinte par des germinations qui se sont constamment trouvées, dès le début, dans des conditions normales. J'ai trouvé, par exemple, par ce procédé, que des solutions d'acide salicylique à 0,1 % exerçaient déjà une action extrêmement nuisible sur les pois (1).

On cultivera ensuite des germinations de *Pisum* dans des cristallisoirs, en veillant à ce que les cotylédons soient à moitié recouverts d'eau. Après quelques jours, on déterminera la longueur des radicules et des tigelles des germinations, et on remplacera l'eau par des solutions, de concentration connue, de différentes substances, avec lesquelles les germinations resteront en contact pendant 24 heures. On mesurera derechef la longueur des organes des germinations, que l'on placera de nouveau dans l'eau distillée, afin d'observer si la croissance persiste. D'après mes recherches, certains poisons arrêtent définitivement la croissance des germinations; d'autres l'arrêtent aussi, mais cet arrêt n'est que momentané et les germinations reprennent leur développement quand on les plonge ensuite dans l'eau distillée.


Fig. 39. — Appareil pour observer l'action du chloroforme sur les organes végétaux.

J'ai placé des graines gonflées de *Pisum sativum* dans un peu d'eau contenue dans un cristallisoir de verre. A côté de ce cristallisoir, se trouvait un verre contenant du chloroforme, et le tout était recouvert d'une cloche de verre. Aucune graine ne germait, bien que la température (18° C.) ne fût pas trop basse (2). Il est aisé d'instituer une expérience de cours pour montrer l'action nocive du chloroforme sur les cellules végétales. On verse du chloroforme dans un cristallisoir que l'on place, avec une feuille de *Begonia manicata* dont le pétiole plonge dans l'eau, sous une cloche de verre (voy. fig. 39). Les cellules végétales sont immédiatement tuées; la feuille se décolore, parce que les masses protoplasmiques tuées sont devenues perméables aux acides du suc cellulaire, qui décomposent la chlorophylle (3).

Lorsqu'on veut rechercher si certaines substances peuvent nuire au

(1) Voy. DETMER, *Landwirthschl. Jahrbücher*, vol. 10, p. 733.
(2) Voy. DETMER, in *Forschungen auf dem Gebiete der Agriculturphysik* de WOLLNY, vol. 5, p. 253.
(3) Voy. DETMER, *Botanische Zeitung*, 1886, n° 30.

développement du *Penicillium* ou des bactéries, et même l'arrêter complètement, on fera des cultures, de la manière indiquée dans les §§ 32 et 35, avec cette différence cependant que l'on ajoutera aux solutions nutritives des quantités déterminées des corps dont on veut étudier l'action sur les plantes (par exemple l'acide salicylique, le sublimé-corrosif, etc.). On ne négligera point de faire des cultures de contrôle, en n'ajoutant point de poison aux solutions nutritives.

J'ai abandonné pendant huit jours une solution nutritive de Pasteur, qui contient du sucre candi (voy. dans le § 17, la préparation de cette solution), sans rien y ajouter, et une autre fois en l'additionnant de 0, 2 % d'acide salicylique. Dans ce dernier cas, le liquide, au bout de ce temps, était encore clair; dans la solution pure, il s'était produit une importante végétation bactérienne qui la rendait trouble.

III. LES ACTIONS MOLÉCULAIRES ÉLÉMENTAIRES DANS LES PLANTES.

53. Le phénomène de l'imbibition.

Nous détachons une mince section transversale de la tige d'un jeune *Laminaria*. Lorsque l'objet est placé dans l'alcool, l'examen microscopique laisse difficilement apercevoir les détails de structure; ceux-ci n'apparaissent nettement qu'après l'addition d'eau. Nous pourrons alors établir une distinction entre la couche corticale externe, dont les cellules possèdent des membranes brunes, et la couche corticale interne qui forme la masse principale du tissu et dont les membranes cellulaires sont incolores. Au milieu de la section transversale, nous trouvons un tissu médullaire constitué par des cellules utriformes. Lorsqu'on laisse pénétrer de l'eau dans les fragments de *Laminaria* placés dans l'alcool, on peut observer au microscope qu'ils subissent une augmentation considérable de volume au moment de la pénétration de l'eau. On peut encore montrer cette augmentation de volume en mesurant en millimètres : d'une part, des morceaux de pétioles secs de *Laminaria;* d'autre part, des morceaux trempés dans l'eau. La substance du *Laminaria* est donc susceptible de gonflement et le phénomène qui le détermine est désigné sous le nom d'imbibition. L'accroissement de volume ou le gonflement que subissent les morceaux de laminaire au contact de l'eau n'est cependant pas illimité. Cette circonstance est particulièrement importante; elle nous montre, en effet, qu'un morceau de laminaire, qui possède en général des propriétés analogues à celles des autres productions végétales organisées, présente au contact de l'eau,

à la température ordinaire, des propriétés toutes différentes, semblables à celles que nous offre, par exemple, la gomme.

On plonge dans l'eau un morceau de feuille de *Laminaria* dont le poids à l'état sec est connu, et on le retire du liquide à des intervalles réguliers (toutes les 8 minutes, par exemple), pour le dessécher avec du papier à filtrer et le peser. On remarquera ainsi que la pénétration de l'eau dans l'organe pendant chaque unité de temps est d'abord rapide, qu'elle se ralentit graduellement et finit par s'arrêter. Si on suspend à l'air libre, au moyen d'un fil de platine, le morceau de feuille de *Laminaria* imbibé d'eau et qu'on détermine son poids de temps à autre (environ toutes les demi-heures), on trouve que l'évaporation de l'eau, qui était d'abord considérable pendant chaque unité de temps, diminue de plus en plus

Quelques semences de pois débarrassées de leurs téguments sont placées dans l'eau à 5° C. environ. On en met ensuite autant que possible le même poids dans l'eau à 20° C. Au bout de 4 heures, on pèsera de nouveau les graines après les avoir desséchées. On verra ainsi que les graines absorbent plus d'eau à une haute température qu'à une basse. Une haute température accélère, par conséquent, le gonflement. En plaçant des quantités égales de pois sans téguments : d'une part, dans l'eau; d'autre part, dans une solution à 10 ou 20 % de sel marin, on pourra facilement établir, par des pesées effectuées au bout de quelques heures, que le gonflement ne se produit pas aussi rapidement dans les solutions de sel que dans l'eau pure.

Pour étudier l'augmentation de volume que les graines ou les fragments de bois de diverses plantes éprouvent pendant le gonflement, on place d'abord les matériaux d'étude à l'état sec dans un cylindre étroit en verre, dont le volume jusqu'à un point de repère situé dans la partie supérieure est exactement connu. Au moyen d'une burette, on verse ensuite de l'alcool dilué dans le cylindre jusqu'au point de repère. En considérant la quantité de liquide versée, il sera aisé de calculer le volume des matériaux d'étude. Dans la détermination du volume des graines ou des bois gonflés, on n'emploiera pas de l'alcool dilué, mais de l'eau. Dans les recherches comparées sur l'augmentation de poids et de volume des organes végétaux pendant le gonflement, on pourra souvent constater, surtout lorsqu'on expérimente sur les bois, que l'augmentation réelle de volume des matériaux d'étude ne correspond nullement au volume d'eau qui a été absorbé. Ce fait se comprendra facilement si l'on songe que l'augmentation de volume du bois gonflé ne se produit que par suite de l'imbibition au moyen d'eau de la substance ligneuse solide, tandis que le remplissage de liquide du lumen des éléments ligneux ne peut produire d'augmentation de volume des matériaux d'étude. Les expériences dans lesquelles on détermine en même temps les augmentations de poids et de volume d'un seul et même morceau de bois, présentent encore un autre intérêt. Elles prou-

vent, en effet, que l'imbibition ne peut être confondue, en aucun cas, avec la capillarité. Lorsque des liquides passent dans des tubes capillaires, ils envahissent des cavités préformées; la capillarité, par conséquent, ne détermine pas une augmentation de volume des corps qui attirent le liquide. Lorsqu'il y a imbibition, les molécules du liquide pénètrent entre les micelles du corps gonflé, ce qui provoque une augmentation de volume dans les corps qui gonflent.

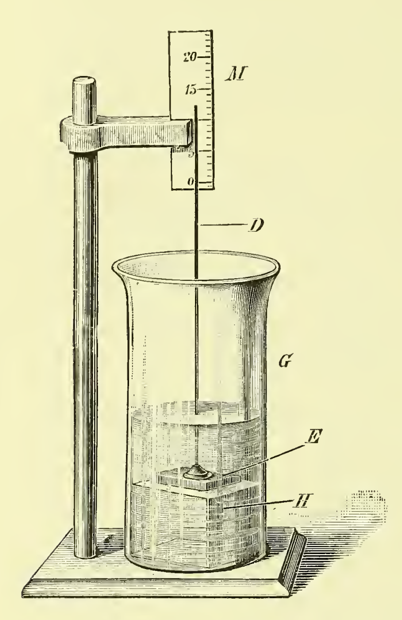


Fig. 40. — Appareil servant à démontrer qu'il s'effectue un travail extérieur pendant le gonflement.

Le bois gonflé se dilate mieux suivant la direction du rayon et de la circonférence que suivant la direction de l'axe. On pourra aisément constater ce fait en prenant les dimensions, en millimètres, d'un morceau de bois cylindrique, assez grand, d'abord à l'état sec, puis lorsqu'il est gonflé. Pour ces expériences, on fera usage de morceaux de bois ayant 100 mm. de longueur et 80 mm. de diamètre.

On pourra, dans les grains d'amidon, par exemple, obtenir des gonflements très énergiques, qui amèneront finalement la destruction de la structure moléculaire, par l'action des hautes températures, des acides ou des alcalis. Quand l'amidon de pomme de terre est déposé sur un porte-objet et chauffé avec précaution dans une flamme à gaz ou à alcool, en remplaçant l'eau qui s'évapore, il se produit une notable augmentation de volume des grains, et vers 70° C. environ, ils sont gonflés en masses transparentes comme du verre, dont les limites sont difficiles à reconnaître.

En faisant passer de la lessive de potasse ou de l'acide sulfurique du bord de la lamelle à des grains d'amidon placés dans l'eau sur le porte-objet, et en veillant à ce que le réactif n'agisse que petit à petit sur les matériaux d'étude, on remarque que la stratification des grains apparaît très nettement au début de l'action. Elle disparaît ensuite, et les grains augmentent considérablement de volume en formant des masses transparentes. Lorsque les particules d'eau pénètrent dans les corps susceptibles d'imbibition, il doit nécessairement se produire une condensation des micelles par suite de l'attraction énergique qu'ils exercent sur le liquide. Mais lorsqu'une telle condensation se produit, il y a dégagement de chaleur. On peut montrer, en effet, que le phénomène de l'imbibition est lié à un dégagement de chaleur. J'ai placé dans des

cylindres en verre 100 gr. d'amidon de pomme de terre ou 100 gr. de farine de pois, d'une température connue, avec une quantité relativement petite d'eau, de même température à peu près. La température du mélange s'est élevée aussitôt d'1°,5 C. environ. L'élévation de température était de 5° C., comme j'ai eu l'occasion de le voir, lorsque l'amidon de pomme de terre était mélangé d'un peu d'eau, après avoir été desséché sous l'action de la chaleur et s'être refroidi.

Le phénomène de l'imbibition est le résultat d'un travail intérieur et d'un travail extérieur. Le premier écarte les micelles les uns des autres. Au moyen du second, les résistances extérieures qui s'opposent à l'accroissement de volume du corps gonflé, peuvent être vaincues. Dans mon cours de physiologie végétale, je faisais usage de l'appareil que représente la fig. 40, pour démontrer que dans le gonflement, il y a production de travail extérieur. Dans le vase de verre G, on place un morceau de bois H, de telle manière que ses faces transversales soient dirigées verticalement. Une pièce en fer E, de poids connu, est placée sur le morceau de bois. A cette pièce est fixé un fil de fer D, au moyen de cire à cacheter. Une règle graduée en millimètres est disposée verticalement auprès de l'appareil. Si on remplit d'eau le vase G, la pièce de fer est soulevée par suite du gonflement du bois, et l'extrémité supérieure du fil de fer s'élèvera peu à peu le long de la règle graduée (1).

54. La diffusion et l'endosmose.

Les substances dissoutes qui se trouvent en un point quelconque du protoplasme ou du suc cellulaire d'une cellule peuvent se répandre dans la masse générale du protoplasme ou du suc cellulaire. La diffusion joue un rôle important dans ce phénomène, mais la rapidité de la diffusion n'est pas toujours aussi considérable qu'on se plaît généralement à le croire; il sera très intéressant de s'en assurer. Sur une table à l'abri des oscillations, on place un long vase cylindrique en verre rempli d'eau. On jette un morceau de bichromate de potassium dans l'eau et on ferme l'ouverture du vase au moyen d'une lame en verre. Le bichromate de potassium se dissout; mais, après quelques jours, les couches supérieures du liquide ne présentent qu'une très légère coloration jaune, alors que les couches inférieures ont la couleur caractéristique de la solution concentrée du sel employé. Dans cette expérience, on n'a cependant point évité toutes les circonstances pouvant faire naître des courants dans le liquide. Il en résulte que la propagation de substances dissoutes par diffusion ne se produit pas avec une rapidité particulière.

(1) Bibliographie : Sachs, *Handbuch d. Experimentalphysiologie d. Pflanzen*, 1865, p. 431 ; Detmer, *Vergl. Physiologie d. Keimungsprocesses d. Samen*, 1880, p. 78 et 290 ; Reinke, in *Botan. Abhandlungen de* Hanstein, vol. 4, cahier 1.

Si, en tenant compte de cette observation, on cherche à connaître les causes qui déterminent l'accélération de la diffusion des substances dissoutes dans le protoplasme et le suc cellulaire, on verra qu'il faut placer en première ligne les courants protoplasmiques et les mouvements que subissent les organes végétaux exposés à l'action du vent.

Il se pourrait que la diffusion des corps dissous jouât dans le transport des aliments dans la plante un rôle beaucoup plus grand que celui qu'on lui attribue aujourd'hui. Et, comme cela se conçoit aisément, la preuve en serait fournie, si on pouvait établir par de nouvelles recherches que la propagation des combinaisons protoplasmiques entre cellules voisines, déjà constatée d'une façon certaine dans quelques plantes, se fait très généralement. Mais, dans tous les cas, de nombreuses expériences sur les plantes nous montrent que les phénomènes osmotiques présentent un intérêt prépondérant, et, pour ce motif, ils méritent toute notre attention.

Un cylindre en verre d'environ 8 cm. de longueur et 3 cm. de largeur est fermé à une de ses extrémités par un morceau de vessie de porc. On peut obtenir une fermeture tout à fait complète du cylindre, en plaçant la membrane lorsqu'elle est humide sur une des extrémités du tube et en l'y fixant au moyen d'une ficelle ou, mieux, à l'aide d'un anneau en caoutchouc. Le cylindre en verre sera ensuite complètement rempli d'une solution de sucre à peu près concentrée, et son extrémité supérieure, fermée au moyen d'un bouchon en caoutchouc percé d'une ouverture dans laquelle on a introduit un long tube en verre. Si on note la hauteur de la solution sucrée dans le tube et qu'on plonge la partie inférieure de l'appareil dans l'eau distillée, on observera bientôt que le liquide monte dans le tube. L'eau traverse la vessie de porc par osmose, et, bien qu'une certaine quantité de la solution sucrée aille se mélanger à l'eau, la quantité de liquide qui pénètre dans l'appareil est plus grande que celle qui en sort. Il en résulte une augmentation de volume pour le liquide qui se trouve dans l'appareil. Si on plongeait la partie inférieure de cet appareil pendant un temps déterminé (1-2 heures) dans l'eau à la température ordinaire, puis dans l'eau chaude (à 30° C. par exemple), il serait aisé de constater, en mesurant l'ascension du liquide dans le tube, que l'osmose s'effectue plus rapidement sous une haute température que sous une basse. Il ne serait pas difficile d'obtenir un ralentissement de l'osmose. Il suffirait de placer la partie inférieure de l'appareil non plus dans l'eau distillée, mais dans une solution à 20 % de sel marin (1).

Pour se rendre exactement compte d'un grand nombre de phénomènes physiologiques, surtout de ceux qui sont sous la dépendance de la turgescence, il importe beaucoup de s'assurer que l'osmose peut exercer

(1) Voy. DETMER, *Beiträge zur Theorie des Wurzeldrucks*, in *Sammlung physiologischer Abhandlungen* de PREYER, vol. I, cahier 8, p. 29, Iéna, 1877.

des pressions considérables. On construira l'appareil que représente la fig. 41. Le cylindre de verre G, possédant 10 cm. de longueur et 2 cm. de largeur, est fermé à sa partie inférieure, plongée dans l'eau, au moyen d'un morceau de vessie de porc. Dans l'orifice pratiqué dans le bouchon en caoutchouc qui ferme l'extrémité supérieure du cylindre, on introduit un tube en forme de *t* (T) dont la partie verticale *a* est mise en communication avec un petit tube en verre *b*, étiré en pointe. La partie horizontale du tube en *t* est mise en communication avec un manomètre M par un tube en caoutchouc à parois épaisses, autour duquel on enroule de plus un fil de fer. Dans ce manomètre, se trouve du mercure. La portion restante de l'appareil est complètement remplie d'une solution à peu près concentrée de sucre, et, finalement, on ferme à la lampe l'extrémité pointue du petit tube *b*. La solution de sucre attire par osmose des quantités d'eau considérables. Il en résulte une pression dans l'appareil, qui fait monter le mercure dans le manomètre. J'ai trouvé, par exemple, dans une expérience, qu'après trois jours, le mercure était de 47 cm. plus élevé dans une branche que dans l'autre. La pression dans l'appareil dépassait, par conséquent, de beaucoup une demi-atmosphère.

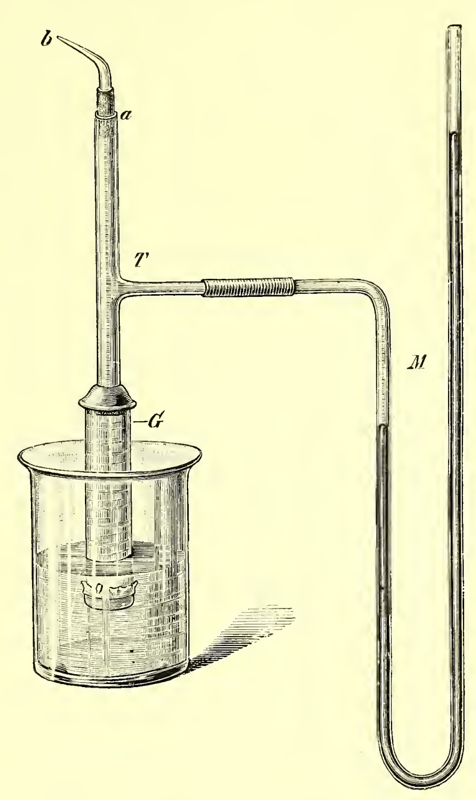


Fig. 41. — Appareil pour montrer les pressions produites par les phénomènes osmotiques.

55. Les propriétés diosmotiques de la membrane cellulaire et du protoplasme.

Les poils staminaux de *Tradescantia* constituent des matériaux remarquables pour l'étude des propriétés diosmotiques de la membrane cellulaire et du protoplasme. Ces poils se détachent facilement du filet à l'aide d'une fine pince. On remarque, à l'examen microscopique, qu'ils sont constitués par une rangée de cellules. La membrane cellulaire, le protoplasme, le noyau et, enfin, le suc cellulaire, d'un beau violet, sont faciles à observer dans chaque cellule (voy. fig. 31).

Nous faisons passer, du bord de la lamelle aux poils de *Tradescantia*, de la glycérine ou des solutions plus ou moins concentrées de sucre ou de sel marin. Ces liquides attirent l'eau du suc cellulaire, de sorte que le protoplasme se contracte et qu'il se produit des cavités entre la membrane et la surface extérieure du corps protoplasmique. Les cellules étaient turgescentes, elles sont maintenant plasmolysées. Cette expérience nous permettra ensuite de constater ce fait important : que l'hyaloplasme du protoplasme vivant doit être imperméable à la substance colorante dissoute dans le suc cellulaire des poils de *Tradescantia*, car elle n'est point sortie du protoplasme après la plasmolyse.

Un phénomène tout différent s'observe quand nous faisons agir sur les poils staminaux de *Tradescantia* de l'alcool absolu qui les tue; le suc cellulaire violet abandonne alors le plasma : l'hyaloplasme étant devenu perméable à la matière colorante. Cet hyaloplasme et surtout le noyau se colorent d'une manière intense, et un liquide coloré peut même s'échapper des cellules. Il sera ensuite très instructif de faire agir des liquides contenant des matières colorantes et provoquant la plasmolyse sur des cellules à suc cellulaire incolore, comme, par exemple, les cellules épidermiques des feuilles de *Tradescantia*.

Je faisais ces expériences de la façon suivante. Des fragments d'épiderme de feuilles de *Tradescantia* étaient plasmolysés, au moyen d'une solution de sel marin, de la manière donnée, puis déposés dans le jus, de coloration assez foncée, de cerises écrasées. La matière colorante traverse la membrane cellulaire, pénètre dans les cavités situées entre cette membrane et le plasma, mais ne parvient pas à imprégner le plasma lui-même. Si on soumet d'abord les cellules épidermiques de *Tradescantia* à la plasmolyse, et si on tue ensuite ces cellules par immersion dans l'eau chaude de fragments d'épiderme que l'on dépose ensuite dans le jus de cerises, le plasma et le noyau cellulaire se coloreront d'une façon assez intense : le protoplasme tué étant devenu perméable à diverses substances qui ne peuvent le pénétrer lorsqu'il est vivant.

Pour démontrer que le protoplasme à l'état normal est imperméable au sucre et qu'il est perméable à cette substance lorsqu'il est mort, on porte des morceaux de betterave, soigneusement essuyés, dans l'eau distillée, à la température ordinaire. Ces morceaux de betterave y sont portés, d'une part, directement; d'autre part, après leur mort par immersion dans l'eau chaude. Au bout de quelques heures, on prélève une petite quantité de chacun de ces liquides, on l'additionne de quelques gouttes d'acide chlorhydrique dilué et on la fait bouillir pendant un temps assez court. Le liquide qui a reçu les morceaux de betteraves tués, laisse facilement apercevoir la présence de sucre au moyen de la solution de Fehling; l'autre ne contient pas de sucre.

Démontrons que, fréquemment aussi, l'hyaloplasme, à l'état normal, est imperméable aux substances minérales. Pour cela, nous prépare-

rons des solutions à 2-4 % de chlorure de sodium ou de nitrate de potassium, dans lesquelles nous porterons des poils staminaux de *Tradescantia* ou des bandes d'épiderme prises sur la nervure médiane de la face inférieure de la feuille de *Tradescantia discolor*. (Cette plante, à cultiver en serre, peut donner en n'importe quelle saison ces matériaux d'étude). Leurs cellules possèdent un suc cellulaire coloré. Les solutions pénètrent dans les cellules par les membranes cellulaires. La plasmolyse, qui s'effectue au bout d'une heure ou deux, persiste pendant plusieurs heures encore, lorsqu'on laisse les matériaux d'étude dans ces solutions salines. Ce dernier détail a une grande importance pour nous, car si le plasma, dans les conditions indiquées, était perméable au sel marin et au salpêtre, il se dilaterait peu à peu de nouveau dans les cellules par suite de l'augmentation du pouvoir osmotique du suc cellulaire des corps protoplasmiques (1).

Les propriétés osmotiques de l'hyaloplasme vivant sont très différentes de celles de la membrane cellulaire, comme nous le savons. Le premier, en général, n'est pas perméable aux substances colorantes, sucre, etc., tandis que la membrane cellulaire remplit vis-à-vis de ces corps le rôle d'un parchemin végétal. Il sera, par conséquent, intéressant de faire quelques expériences pouvant nous renseigner sur la perméabilité osmotique de la membrane. On peut employer, comme dialyseur, un large tube en verre fermé à sa partie inférieure par du papier parcheminé. Dans mes expériences, je donne à l'appareil une disposition quelque peu différente pour en faciliter le maniement. Un tube en verre, à parois épaisses, de 80 mm. de longueur et 40 mm. de diamètre, porte à sa partie inférieure un anneau en laiton qui est pourvu extérieurement d'un pas de vis. Une des faces de la membrane est appliquée sur le bord inférieur de l'anneau, tandis que l'autre se trouve en contact avec la face tournée vers le haut d'un second anneau de laiton, un peu plus mince que le premier. Sur la partie inférieure du dialyseur, on visse enfin une chape en laiton possèdant une ouverture circulaire dont le diamètre est de 40 mm. Les pièces libres en laiton du dialyseur sont fixées au moyen d'une laque spéciale. On place alors l'appareil sur de petits supports en verre dans un cristallisoir dans lequel on verse de l'eau distillée, et on met dans le dialyseur la solution dont on veut examiner le pouvoir osmotique. Dans les expérience qui se font avec des extraits de betteraves, des solutions sucrées ou salines, on peut aisément observer que la matière colorante, le sucre ainsi que les substances minérales, sont capables de traverser la membrane employée et de se répandre dans l'eau ambiante.

Comme beaucoup de substances qui jouissent de la propriété de tra-

(1) Bibliographie : Voy. Sachs, *Experimentalphysiologie d. Pflanzen*, 1865, p. 447, où il est question notamment des importants travaux de Nägeli ; voy. ensuite De Vries, *Archives néerlandaises*, 1871, t. 6; Pringsheim, *Jahrbücher*, vol. 16, p. 588; Detmer, *Journal f. Landwirthschaft*, 27e année, p. 380, ainsi que *Botan. Zeitung*, 1886, n° 30.

verser la membrane cellulaire ne pénètrent pas dans le plasma, il sera particulièrement intéressant de fabriquer des membranes qui ne se laissent pas traverser par des substances dont le papier parcheminé permet l'osmose. Nous préparerons des solutions à 1 % de nitrate de calcium et de phosphate disodique. Cette dernière substance sera versée dans le dialyseur fermé avec le parchemin, tandis que la première servira de liquide extérieur. Il se produira dans le parchemin végétal un précipité membraneux de phosphate de calcium. Et, après quelques heures, en ajoutant dans le dialyseur quelques gouttes d'une solution aqueuse de bleu de méthyle dans la solution de phosphate disodique, on remarquera que la substance colorante ne se répand point dans le liquide extérieur. Dans mes expériences, par exemple, ce liquide était encore incolore au bout de 24 heures. On enlèvera le liquide coloré du dialyseur, on prendra ensuite un nouveau parchemin et on remplacera le liquide extérieur par de l'eau distillée. Si, maintenant, on verse de nouveau la solution de phosphate disodique renfermant du bleu de méthyle dans le dialyseur, on remarquera que la matière colorante traverse immédiatement le dialyseur pour se répandre dans l'eau. Celle-ci, dans mes expériences, était déjà fortement colorée au bout de 2 heures. Les précipités membraneux de phosphate de calcium sont perméables au chlorure de sodium, comme il est facile de s'en assurer. Les expériences qui viennent de nous occuper n'ont d'autre but que de montrer que certaines substances qui peuvent traverser une membrane sont fréquemment arrêtées par d'autres membranes. Des expériences de ce genre sont, évidemment, d'un intérêt particulier pour la compréhension des relations qui existent entre la membrane cellulaire d'une part, et le protoplasme d'autre part. Seules, des observations spéciales permettront toujours de constater si un corps qui ne peut traverser une membrane artificielle peut pénétrer dans le protoplasme. Et, pour ce qui concerne le bleu de méthyle, on remarquera qu'il peut réellement pénétrer à l'intérieur des cellules par le plasma.

En abandonnant pendant 24 heures quelques exemplaires d'*Elodea canadensis* dans une solution aqueuse à 0,0008 % de bleu de méthyle (on emploie 1 litre de liquide), on remarque à l'examen microscopique que le suc cellulaire est fortement coloré en bleu. Les cellules ne sont point tuées, car le mouvement protoplasmique existe toujours. La substance colorante, par conséquent, a dû traverser la membrane cellulaire ainsi que le plasma (1).

D'après les résultats de mes recherches, il arrive souvent que certaines substances (matières colorantes, sucres, acides végétaux, corps minéraux) ne traversent pas comme tels les couches membraneuses du plasma. Je ne veux point dire par là que l'hyaloplasme est imperméable

(1) Voy. PFEFFER, *Untersuchungen aus d. botan. Institut in Tübingen*, vol. 2, p. 223 et 302.

en n'importe quelle circonstance pour les corps sus-désignés. Les observations récentes de divers savants, qui ne sont cependant pas encore arrivés à la solution, exigeraient plutôt une autre interprétaton. Il semblerait que certaines substances qui ne pasent pas d'ordinaire à travers le plasma parviendraient à le traverser lorsqu'il existe de fortes accumulations de ces matières dans les cellules. L'hyaloplasme modifierait vraisemblablement ses propriétés diosmotiques, à la suite de phénomènes vitaux et proportionnellement aux besoins des cellules. De longues et patientes recherches permettront seules de faire la lumière sur ce phénomènes.

56. La turgescence et la plasmolyse.

Les substances en dissolution dans le suc cellulaire (corps minéraux, acides organiques, sucres, etc.) attirent l'eau par osmose à l'intérieur des cellules. Comme le suc cellulaire augmentera ainsi de plus en plus de volume, il finira par exercer une pression sur le protoplasme et la membrane, qui sont à la fois dilatables et élastiques. La grandeur de la dilatation d'une cellule, provoquée par la turgescence, dépend par conséquent : d'une part, de l'intensité de la turgescence à l'intérieur de la cellule ; d'autre part, de la résistance offerte par les enveloppes cellulaires dilatées (protoplasme et membrane cellulaire) (1).

On peut construire des appareils qui représentent clairement l'action de la turgescence. J'employais, pour cela, des tubes en verre de 80 mm. de longeur et de 40 mm. de diamètre. On ferme une extrémité avec une membrane de vessie de porc ; on remplit complètement le tube avec une dissolution presque concentrée de sucre et on le ferme en haut avec un autre fragment de vessie. Cette sorte de cellule artificielle est plongée dans l'eau distillée. La solution de sucre absorbe de l'eau par osmose, de sorte que le contenu de la cellule, dont le volume devient de plus en plus considérable, exerce une pression croissante sur les fragments de vessie. Ceux-ci deviennent hémisphériques et exercent de leur côté une pression sur le contenu de la cellule. Il en résulte dans l'appareil une forte tension antagoniste entre la dissolution de sucre et les fragments de vessie. Dès que la cellule artificielle est fortement turgescente, on la retire de l'eau. Si avec une fine aiguille on pique alors les membranes, on voit s'échapper aussitôt un filet d'eau et les membranes s'affaisser. La turgescence, par conséquent, exerce une pression considérable dans les cellules.

Il sera très intéressant de faire ensuite l'expérience qui va suivre. On peut facilement la répéter dans un cours de physiologie. Dans un petit

(1) Pour l'étude détaillée de la turgescence, voy. mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, 1883, p. 213.

vase de verre rempli d'une dissolution de ferro-cyanure de potassium, on introduit un petit morceau de chlorure de cuivre. Le chlorure de cuivre s'entoure immédiatement d'un précipité membraneux de ferro-cyanure de cuivre et, comme il attire de l'eau de l'extérieur, la membrane gonfle. Il se forme de cette façon une cellule artificielle turgescente (cellule de Traube), dont les dimensions grandissent peu à peu et dont la longueur peut atteindre plusieurs centimètres. Le gonflement de la membrane brune de ferro-cyanure de cuivre est dû à ce qu'elle est pénétrée de molécules de chlorure de cuivre dissout de l'intérieur, et de molécules de ferro-cyanure de potassium de l'extérieur. Il s'effectue dans la membrane une double décomposition de ces deux substances, d'où résulte la formation de molécules de ferro-cyanure de cuivre qui provoquent le gonflement de la membrane (1).

Si du bord de la lamelle, on fait passer une solution de sucre ou de la glycérine aux cellules des poils staminaux de *Tradescantia*, aux cellules épidermiques des feuilles de cette plante ou aux filaments de spirogyres, on observe les phénomènes décrits dans le § 55. Les cellules passent de l'état turgescent à l'état plasmolytique. Leur protoplasme se détache de la membrane cellulaire, se contracte, et l'eau du suc cellulaire est attirée par les substances hygroscopiques (glycérine, solution de sucre). Les cellules plasmolysées ne sont point tuées de suite; ce qui le prouve, c'est que le protoplasme des cellules plasmolysées des poils staminaux de *Tradescantia* demeure encore longtemps imperméable à la substance colorante violette dissoute dans le suc cellulaire.

On peut montrer expérimentalement aussi qu'il est très facile de plasmolyser des organes végétaux. Nous emploierons des jeunes hampes florales de *Butomus umbellatus* et de *Plantago*, des pétioles de *Tropæolum*, des axes hypocotylés étiolés de *Phaseolus* ou des racines principales de cette plante (germinations cultivées dans la sciure). On trace, à des intervalles de 40 à 90 mm., de fins traits à l'encre de Chine sur des morceaux de tiges ou de racines de 50 à 100 mm. de longueur, enlevés aux parties les plus jeunes de ces organes. Nous ferons usage d'une encre de Chine de très bonne qualité que nous broierons dans l'eau. Pour tracer les traits, nous nous servirons d'un pinceau de martre que nous conserverons aussi propre que possible. Après avoir cherché l'écartement à l'aide d'une règle graduée en millimètres, nous plongerons les matériaux d'étude dans une dissolution aqueuse, à 10%, de sel marin ou de nitrate de potassium. Ces matériaux perdront leur turgescence, la plasmolyse les rendra mous, et après un temps plus ou moins long (4-24 heures), il sera facile de constater que l'écartement des traits est beaucoup moindre qu'au début de l'expérience. De même que la glycérine et les solutions sucrées, les

(1) Voy. TRAUBE, in *Archiv. f. Anat. und Physiol.* de DU BOIS-REYMOND et REICHERT, 1867, p. 87.

dissolutions salines attirent l'eau des cellules, la diminution de turgescence ainsi produite dans les cellules détermine la contraction des tissus (1).

Si lès organes végétaux perdent de l'eau en se flétrissant, ils se raccourcissent, par conséquent aussi, proportionnellement à la diminution de la turgescence dans leurs cellules. Nous déposons sous l'eau pendant 1/2 heure des jeunes plantes de *Pisum* qui ont germé dans la sciure et dont les racines ont atteint une longueur de 80 mm. environ. La turgescence des cellules des racines sera bientôt complète. Nous essuyons soigneusement les racines à l'aide d'un morceau de toile, et nous traçons un trait, à l'encre de Chine, près du sommet de la racine, et un second, à 25 mm. environ du premier. Il est facile de constater que le raccourcissement des racines n'est pas peu considérable après un séjour de 10 minutes dans l'air. Si, alors, on les met dans l'eau, elles s'allongeront de nouveau et l'écartement des traits sera le même qu'auparavant (2).

57. Les coefficients isotoniques.

La grandeur du pouvoir osmotique d'une cellule dépend à la fois de la nature et de la quantité des substances capables d'attirer l'eau, contenues dans le suc cellulaire. Pour rechercher la présence de ces corps dans le suc cellulaire, on comprime à l'aide d'une presse à la main des organes végétaux fort succulents (par exemple des pétioles de *Heracleum spondylium*, des jeunes tiges de *Rheum*, des feuilles de crassulacées, etc.). Pour coaguler l'albumine, le jus ainsi obtenu est chauffé au bain-marie à 100° C. dans des vases fermés, puis on le filtre. Si on évapore 10 c.c. du jus filtré et qu'on incinère soigneusement le résidu, on pourra facilement relever la présence de chlorures au moyen du nitrate d'argent. On constatera l'existence de glucose au moyen de la liqueur de Fehling. La présence de sucre de canne est décelée par un procédé qui sera indiqué dans la troisième division. Comme réactif de l'acide oxalique, on se servira du chlorure de calcium. Si, après filtration du précipité, on traite par l'alcool en excès, l'acide malique qui pourrait se trouver dans le filtre se précipite.

La réaction acide de la plupart des jus végétaux provient de ce que leurs bases ne suffisent pas pour neutraliser les acides organiques qu'ils renferment. Pour effectuer des recherches quantitatives sur la composition des jus végétaux, il sera bon de recourir au précieux ouvrage, cité plus loin, de H. de Vries.

Il existe divers jus végétaux (celui qui est fourni, par exemple, par les

(1) Voy. H. de Vries, *Untersuchungen über die mechanische Ursache der Zellstreckung*, Halle, 1877.

(2) Voy. Sachs, *Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg*, vol. I, p. 396.

pétioles d'*Heracleum spondylium*) très riches en glucose. Cette substance est alors d'une importance particulière pour le pouvoir osmotique du suc cellulaire et aussi, par conséquent, pour la turgescence des cellules. Dans d'autres cas, dans les feuilles de *Solanum tuberosum*, par exemple, la quantité de glucose est bien inférieure à celle des autres corps.

Il importe beaucoup de constater maintenant que des quantités égales de substances différentes contenues dans le suc cellulaire n'ont pas du tout le même pouvoir osmotique. Certains corps attirent l'eau avec plus d'énergie que d'autres, et H. de Vries a recherché les nombres qui représentent la grandeur relative de l'attraction pour l'eau d'une molécule de chaque corps en solution aqueuse étendue. Ces nombres constituent, d'après lui, les coefficients isotoniques de ces différentes substances. H. de Vries a choisi comme terme de comparaison dans toutes ses recherches l'attraction pour l'eau du nitrate de potassium. Le coefficient isotonique d'une molécule de ce corps a été représenté par 3, afin de pouvoir opérer sur des nombres entiers.

Nous laisserons de côté les considérations théoriques, pour nous occuper immédiatement des expériences et nous familiariser, par l'examen de leurs résultats, avec les théories et la méthode de H. de Vries. On prépare quatre dissolutions de nitrate de potassium dans l'eau. La première contient 0,1 de molécule de sel (exprimé en grm.), par litre d'eau; la seconde, 0,12; la troisième, 0,13; la quatrième, 0,15 (le poids moléculaire de $KNO^3 = 101$). On fait ensuite quatre dissolutions de sucre de canne dans l'eau. La première contient 0,15 de molécule de sucre (exprimé en grm.) par litre d'eau; la seconde, 0,2; la troisième, 0,22 et la quatrième, 0,25 (le poids moléculaire du sucre de canne $C^{12} H^{22} O^{11} = 342$). On porte 15 c. c. de chacune de ces huit dissolutions dans de petits vases en verre qui reçoivent chacun un petit fragment d'1 à 2 mm. de longueur, de l'épiderme recouvrant la nervure médiane de la face inférieure de la feuille de *Tradescantia discolor*. Ces cellules épidermiques renferment dans leur suc cellulaire une matière colorante rouge. J'ai eu l'occasion de constater que ces matériaux d'étude étaient d'un excellent emploi. La plante, à cultiver en serre chaude, peut servir en toute saison. Les lambeaux d'épiderme sont laissés pendant deux heures à la température ordinaire en contact avec les dissolutions, contenues dans des vases fermés, puis on les examine au microscope. Il s'agira alors de voir si les liquides employés ont produit une plasmolyse plus ou moins complète dans les cellules épidermiques, ou si la plasmolyse ne s'est pas encore effectuée. Le début de la plasmolyse, particulièrement intéressant pour nous, est facile à apercevoir en faisant usage de l'épiderme coloré du *Tradescantia discolor*. Il est caractérisé par l'écartement qui se produit immédiatement entre le protoplasme et la membrane des cellules. Quand il s'agira ici du « début » de la plasmolyse, c'est que

le plasma se sera quelque peu contracté dans la moitié, à peu près, des cellules d'un objet.

On trouvera que les dissolutions au 0,1 de nitrate de potassium et au 0,15 de sucre de canne ne produisent pas de plasmolyse, mais cependant que les dissolutions au 0,15 de nitrate de potassium et au 0,25 de sucre de canne déterminent déjà des actions plasmolytiques très importantes On constate un commencement de plasmolyse dans des dissolutions de concentrations intermédiaires : des dissolutions, par exemple, au 0,13 de nitrate de potassium et au 0,22 du sucre de canne. Ces deux dissolutions possèdent, par conséquent, une égale attraction pour l'eau. Comme elles déterminent toutes deux un commencement de plasmolyse, leur concentration isotonique est la même. Les valeurs 0,22 et 0,13 sont dans le rapport de 1 à 0,591, et comme le coefficient isotonique d'une molécule de nitrate de potassium a été représenté par 3, il s'ensuit que celui d'une molécule de sucre de canne doit être 1,77. On voit par là qu'une molécule de nitrate de potassium exerce une plus grande attraction sur l'eau qu'une molécule de sucre de canne.

A l'aide de sa méthode de plasmolyse comparée, H. de Vries a pu établir les coefficients isotoniques d'une série de corps différents qui se rencontrent dans le suc cellulaire. Je ne m'étendrai pas davantage sur les importants résultats de ses recherches, mais je recommanderai tout particulièrement l'étude approfondie de son travail (1).

58. Intensité de la turgescence.

Pour mesurer la turgescence des organes végétaux, il y aura avantage à expérimenter sur des fragments de pousses ayant un diamètre moyen de 1 à 2 mm. et 100 mm. de longueur. J'ai employé, par exemple, comme matériaux d'étude, des inflorescences de *Plantago*, des morceaux de tiges de *Lonicera tatarica*, etc. Sur ces organes végétaux, on trace à l'encre de Chine des traits distants, les uns des autres, de 80 mm. On plasmolyse ensuite complètement ces organes en les plongeant pendant 24 heures dans une dissolution, à 10 %, de sel marin. Le raccourcissement produit peut être déterminé aisément au moyen d'une règle graduée en millimètres. Les matériaux d'étude subiront alors un allongement dans l'appareil représenté par la fig. 42. Ils y reposent horizontalement sur une planchette de bois B ou, mieux, sur une plaque de liège. Leur extrémité la plus mince est recouverte par une petite lame de liège K

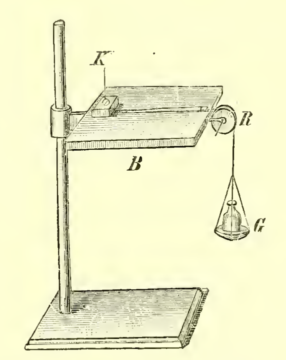


Fig. 42. — Appareil pour déterminer l'intensité de la turgescence.

(1) Voy. H. de Vries, in *Jahrbüchern f. wissenschl. Botanik* de Pringsheim, vol. 14.

que l'on fixe au moyen d'une épingle. Un fil est enroulé autour de l'autre extrémité. Ce fil passe sur une poulie R et porte un plateau G, destiné à recevoir des poids. On charge le plateau jusqu'à ce que la distance qui sépare deux traits consécutifs soit la même qu'avant la plasmolyse, c'est-à-dire de 80 mm. Dans cette expérience, l'effet produit par le poids est semblable à celui de la turgescence dans la nature. Elle nous permettra ainsi d'évaluer, avec une approximation suffisante, l'intensité de la turgescence dans un organe végétal intact. Dans un morceau de tige dont le diamètre moyen est de 1 mm., la section transversale mesure 0,785 mm. carrés, car l'aire d'un cercle (J) est donné par la formule $J = 1/2\ r.\ u$, dans laquelle r représente le rayon du cercle et u, sa circonférence (2 r. 3,141, nombre de Ludolph). Si on emploie 50 gr. pour ramener à sa longueur primitive un organe plasmolysé ayant 1 mm. de diamètre, l'intensité de la turgescence dans un organe frais devra donc être de 6 1/2 atmosphères. La turgescence, en réalité, atteint fréquemment une valeur aussi grande; dans un cas déterminé, j'ai trouvé qu'elle était d'1,4 atmosphère chez un morceau de tige de *Lonicera tatarica* (1).

59. La température des plantes.

La température d'un organe végétal est liée à un nombre très considérable de circonstances. On comprend parmi celles-ci : la structure de l'organe, sa position dans l'organisme, son contenu d'eau, sa chaleur propre, l'intensité de sa transpiration, son pouvoir absorbant pour la chaleur, son pouvoir conducteur, son pouvoir rayonnant, etc. Il en résulte, évidemment, qu'il sera très difficile dans un grand nombre de cas d'indiquer les raisons motivées de la température d'un organe végétal. Parmi les circonstances qui interviennent ici, il y en a beaucoup qui n'ont pas été, ou ont été peu étudiées.

Les membres d'une plante qui transpirent fortement sont souvent un peu plus froids que l'air ambiant, ce qui est dû surtout à ce que la formation de vapeur d'eau réclame beaucoup de chaleur. D'autre part, les plantes qui transpirent peu et qui sont de consistance charnue et succulente, atteignent souvent une température relativement très élevée sous l'influence des radiations solaires directes. Les feuilles de certaines crassulacées (*Sempervivum*, *Escheveria*) fortement exposées au soleil sont chaudes au toucher. Leur température est de beaucoup supérieure à celle des feuilles délicates et minces d'autres plantes qui se trouvent dans leur voisinage immédiat. Il est très instructif de relever exactement, à l'aide du thermomètre, la température des plantes grasses (2). J'ai fait des recherches de ce genre sur un cactus (*Echinopsis multiplex*). Dans un cactus, on pratique une cavité s'étendant jusqu'au

(1) Voy. H. de Vries, *Die mechanischen Ursachen der Zellstreckung*, Halle, 1877, p. 118.
(2) Voy. Askenasy, *Botan. Zeitung*, 1875.

milieu de la plante. Puis on nettoie la cavité au moyen de papier à filtrer et on y introduit un thermomètre à mercure dont le réservoir est cylindrique. Après avoir eu soin de fermer hermétiquement l'ouverture de la cavité, ce qui se fait aisément au moyen de papier à filtrer, on expose la plante à l'air libre, dans un endroit où elle est soumise pendant le jour à l'action directe des rayons solaires. On observe la température de la plante pendant le jour et aussi pendant la nuit, puis on compare les résultats obtenus à ceux fournis par un thermomètre placé à l'ombre. La détermination exacte de la température de l'air n'est pas facile à effectuer. Le mieux est de suspendre le thermomètre, placé dans une vaste caisse en zinc suspendue à une fenêtre tournée vers le nord, de manière qu'il soit à une grande distance du sol. La caisse doit être construite de telle sorte qu'elle permette la circulation de l'air. Elle ne doit pas non plus être placée trop près du bâtiment. Si on effectue ces expériences sur les cactus, on est étonné de la haute température qu'ils peuvent atteindre au soleil.

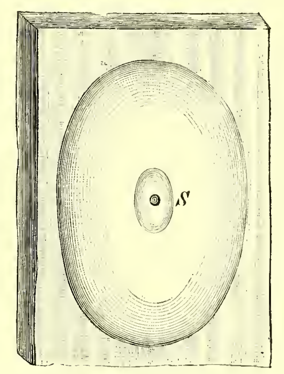


Fig. 43. — Lame de bois enduite de cire. S, zone de fusion.

Pendant une chaude journée, une plante possédait à 10 h. 1/2 du matin une température de 23° C.; à 2 h. 1/2, cette température s'était élevée à 40°,5 C. La température de l'air, prise à l'ombre, pendant ce temps, était de 24°,5 C. Un autre jour, cette même plante avait atteint pendant l'après-midi une température de 45°,5 C.

Pour être renseigné sur la température qui règne à l'intérieur des troncs d'arbres, on les perce d'une ouverture qui atteint leur milieu, et on y introduit un thermomètre. Des fragments de tube en caoutchouc glissés sur le thermomètre pourront fournir aisément une fermeture imperméable à l'air. La température intérieure d'un arbre relevée au niveau de la surface du sol diffère naturellement de celle des régions situées plus haut. Il est clair aussi qu'il n'est pas indifférent que l'arbre soit rencontré directement, ou non, pendant le jour par les rayons solaires. Lorsqu'on opère sur des troncs dont le diamètre n'est pas trop minime, de 40 cm., par exemple, et dans lesquels le thermomètre pénètre, par conséquent, à une profondeur de 20 cm., on remarque généralement que la température de l'arbre, qui est moindre que celle de l'air pendant le jour, dépasse celle-ci pendant la nuit, et que la température maximum de l'arbre se produit beaucoup plus tard que le maximum diurne de la température de l'air.

Une expérience très simple, facile à répéter dans un cours de physiologie végétale, permet de démontrer que le bois sec conduit plus rapidement la chaleur dans une direction parallèle à l'axe du tronc que dans une direction perpendiculaire à cet axe. Une lamelle polie de bois de til-

leul, de bouleau ou de chêne, est recouverte d'une mince couche de cire, au moyen d'un pinceau plongé dans de la cire fondue. On chauffe ensuite un fil de fer et on en applique l'extrémité chauffée perpendiculairement à la lamelle de bois. Il se produit une zone de fusion (S, fig. 43), représentant une ellipse dont le grand axe est dirigé parallèlement aux fibres du bois. En mesurant la longueur du grand et du petit axe de l'ellipse, on pourra calculer le rapport qui existe entre la conductibilité du bois dans le sens longitudinal et dans le sens transversal. Lorsqu'on remplace, dans cette expérience, la lamelle de bois par une lamelle de verre recouverte d'une mince couche de cire, la zone de fusion que l'on obtient n'est pas elliptique, mais circulaire, parce que la conductibilité calorifique du verre est la même dans toutes les directions.

Comme la température du sol exerce une action importante sur la végétation, il ne sera certes pas sans intérêt d'effectuer l'expérience qui va suivre. Nous prendrons deux boîtes cubiques en zinc ayant 6 ou 8 cm. de diamètre. Dans l'une, nous placerons de la terre desséchée à l'air; l'autre recevra la même quantité de terre, qui aura été, au préalable, plus ou moins, ou même complètement, imbibée d'eau. Ces deux boîtes seront ensuite exposées pendant quelques heures à l'action directe des rayons solaires. Il sera bon, cependant, de placer ces boîtes dans une caisse en bois et de les entourer d'un corps mauvais conducteur de la chaleur (par exemple de l'ouate), pour que les rayons solaires n'exercent guère leur action que sur la surface supérieure de la terre. En introduisant des thermomètres jusqu'à une profondeur d'un centimètre tant dans la terre sèche que dans la terre humide, nous pourrons facilement constater que la terre sèche s'échauffe beaucoup plus que la terre humide. C'est ainsi que j'ai trouvé, par exemple, dans certaines recherches effectuées, il est vrai, d'une manière quelque peu différente de celle qui vient d'être donnée, que la température, prise à la surface d'une terre tourbeuse sèche exposée pendant 1 h. 1/2 à l'action des rayons solaires directs était de 34°,3 C., alors que la température de cette terre, mouillée, n'atteignait que 29°, 5 C. La température de la terre humide est moindre que celle de la terre sèche, parce que le calorique spécifique de l'eau est fort élevé et que l'évaporation de l'eau nécessite une certaine quantité de chaleur. Les terrains très humides sont souvent appelés froids, expression qui, en fait, ne paraît pas inexacte. Ce n'est pas ici le lieu de nous étendre plus longuement sur l'état thermique du sol (1).

60. Les actions électromotrices dans les plantes.

Divers phénomènes déterminent la production d'actions électromotrices dans les organismes végétaux. C'est surtout aux mouvements des particules d'eau, mouvements qui se présentent très généralement dans

(1) Pour les détails, voyez : Detmer, *Lehrbuch der Bodenkunde*, 1876, p. 256.

les plantes, qu'on attribue la formation de tensions électriques et de courants. Kunkel (1), notamment, a fait récemment des recherches sur les actions électromotrices dans les plantes. Il a observé, d'accord en cela avec Quincke, qu'on pouvait constater l'existence d'actions électromotrices lors de la pénétration des liquides dans des corps inertes. J'ai eu l'occasion de contrôler l'existence d'une série de phénomènes indiqués par Kunkel.

Nous nous procurons un vase poreux sec et fraîchement préparé. A l'intérieur de celle-ci, nous suspendons, d'une part, une électrode impolarisable (zinc — sulfate de zinc — pied d'argile), et sur la paroi externe de la cellule, nous appliquons, d'autre part, une électrode semblable à la précédente. On peut aisément fabriquer soi-même ces électrodes, dont la longueur peut n'être que de quelques centimètres. Elles consistent, comme nous le montre la fig. 44, en un court tube de verre G, d'un centimètre environ de diamètre, fermé à sa partie inférieure par une petite plaque d'argile T présentant une saillie latérale. Cette plaque est fixée sur la base du tube au moyen de cire à cacheter. Après avoir fortement mouillé la plaque par immersion dans l'eau, on versera une solution de sulfate de zinc dans le tube de verre. A l'extrémité supérieure de celui-ci, nous fixerons, au moyen d'un morceau de tube en caoutchouc, un cylindre de zinc dont la partie inférieure plonge dans la solution de sulfate de zinc et dont le sommet porte une petite borne. Pour manier ces électrodes avec facilité, on assujettit le tube en verre dans un morceau de liège enserré dans un tube en plomb d'un pied environ de longueur, saisi lui-même par les branches d'un support à cornues. Quand tout l'appareil est monté, on le met en communication avec un électromètre sensible, et dès qu'on a versé suffisamment d'eau dans le vase poreux pour atteindre l'électromètre, on remarque l'existence d'un courant électrique, produit par la pénétration de l'eau dans le vase poreux (voy. le travail de Kunkel).

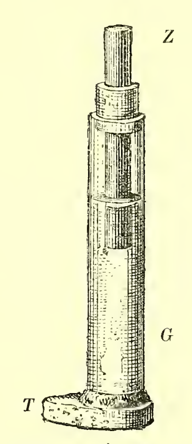


Fig. 44. — Électrode impolarisable.

Pour étudier les actions électromotrices dans les organes végétaux intacts, on emploie des feuilles coupées ou encore attenantes à la plante (*Aristolochia*, *Vitis*, *Cucurbita*). Une des électrodes impolarisables est mise en contact avec une nervure foliaire; l'autre, avec la surface foliaire verte. On introduit ensuite dans le circuit un électromètre sensible (celui de Thomson, par exemple). On remarquera une différence de tension entre les deux endroits examinés de la feuille. Les nervures foliaires sont électrisées positivement, par rapport à la partie plate de

(1) Voy. Kunkel, in *Archiv. f. d. gesammte Physiologie* de Pflüger, vol. 25, et *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. 2.

la feuille, colorée en vert, c'est-à-dire que l'électricité positive va de la nervure foliaire à l'arcade qui en dérive.

Dans cette expérience, le contact seul des feuilles avec les électrodes humides provoque des actions électromotrices. Il en résulte que les actions électromotrices doivent être produites par les mouvements de l'eau. Ces mouvements, existant à l'état naturel chez les plantes, devront fournir de même des tensions électriques et des courants.

IV. CIRCULATION DES GAZ DANS LES PLANTES.

61. Remarques sur le rôle des gaz en général.

Un tube à réactions est rempli d'un jus végétal, de jus de raves, par exemple, qu'on s'est procuré en râpant des rondelles de raves, en comprimant ensuite dans un drap le produit obtenu, et en clarifiant par filtration, si c'est nécessaire, le liquide qui s'en est écoulé. On remplit ensuite un petit vase de ce même jus, et après avoir plongé l'ouverture du tube à réactions dans le liquide du vase, on déplace le jus du tube par de l'acide carbonique. Si on laisse alors l'appareil en repos pendant quelque temps, on remarque que le jus s'élève dans le tube à réactions : l'acide carbonique est absorbé par le liquide. Il en est de même dans les cellules intactes : le suc cellulaire jouit de la propriété d'absorber l'acide carbonique qui se trouve en contact avec lui. Le pouvoir absorbant des solutions aqueuses pour l'oxygène et l'azote est beaucoup moindre que pour l'acide carbonique.

Les organes végétaux desséchés à l'air, les graines, par exemple, ont aussi la faculté d'absorber des quantités d'acide carbonique qui ne sont pas négligeables. Dans un tube de verre fermé à la lampe à son extrémité supérieure, on met 15 ou 20 graines de *Phaseolus multiflorus* desséchées à l'air, et on introduit ensuite dans le tube un petit morceau de liège ou de la laine de verre pour maintenir les graines dans sa partie supérieure. Le tube sera alors fixé de manière à tourner vers le bas son extrémité fermée et recevra un fort courant d'acide carbonique. Après avoir bouché l'ouverture du tube avec le pouce, on la plongera rapidement dans le mercure. Le mercure s'élèvera peu à peu dans le tube; car, au bout de quelques jours, les graines auront absorbé quelques c. c. d'acide carbonique. Et si on a eu soin de déterminer avec précision le volume gazeux dans l'appareil au début et à la fin de l'expérience (voy. dans le § 13 la méthode à employer), on pourra mesurer exactement la quantité d'acide carbonique enlevée par les maté-

riaux d'étude (1). D'après Borodin, les graines de haricots gonflées n'absorbent pas une quantité beaucoup plus grande d'acide carbonique que les graines desséchées à l'air. C'est là un fait qui engagerait à entreprendre de nouvelles expériences.

Les recherches de Graham et Bunsen ont montré que les vitesses avec lesquelles les gaz traversent en sens inverse les parois séparatrices poreuses qui n'exercent pas des attractions particulières sur ces gaz, sont inversement proportionnelles à la racine carrée du poids spécifique de ces gaz. Il est de fait que l'on s'aperçoit aisément que l'hydrogène, par exemple, passe beaucoup plus rapidement à travers une paroi poreuse que l'air atmosphérique. J'ai employé pour ce genre d'expériences un tube de verre ayant 15 mm. de diamètre et 40 mm. environ de longueur, fermé à une de ses extrémités par une plaque d'argile sèche de 5 mm. d'épaisseur. Celle-ci était fixée à l'extrémité du tube au moyen de cire à cacheter. On remplissait ensuite le tube d'hydrogène et on plongeait rapidement sous l'eau son extrémité ouverte; le liquide montait aussitôt dans le tube jusqu'à une hauteur considérable, parce que le volume d'hydrogène qui traversait la plaque d'argile pendant chaque unité de temps pour se répandre dans l'air atmosphérique, était plus grand que le volume d'air atmosphérique qui pénétrait dans l'appareil.

L'anhydride carbonique, gaz à poids spécifique élevé, doit passer, d'après ce que nous avons appris sur les mouvements des gaz, beaucoup plus lentement que l'air atmosphérique à travers une paroi séparatrice poreuse, telle qu'une plaque d'argile. Il se produira toutefois un phénomène inverse si l'acide carbonique et l'air atmosphérique doivent traverser une paroi séparatrice exerçant une attraction spéciale sur l'acide carbonique (absorption gazeuse). En remplissant d'acide carbonique un tube de verre fermé à une de ses extrémités par une mince membrane de caoutchouc (les membranes de caoutchouc se fixent le mieux au moyen de cordons élastiques), et en plongeant son extrémité ouverte dans le mercure, celui-ci montera peu à peu dans le tube. Il est clair que le mercure ne s'élèvera pas rapidement dans l'appareil; il sera nécessaire, par conséquent, de laisser longtemps l'appareil en repos (environ 24 heures). S'il ne s'agit point de faire une recherche de précision, mais une expérience de démonstration, il sera bon de placer, à côté du tube fermé par une membrane de caoutchouc, un second tube de mêmes dimensions dont l'extrémité supérieure est fermée à la lampe. Le niveau du mercure dans ce second tube permettra de voir l'influence exercée sur le gaz emprisonné pendant la durée de l'expérience par la température et la pression atmosphérique. Après un temps très long, on constatera que le niveau du mercure est beaucoup plus élevé dans le tube fermé par une membrane de caoutchouc que dans l'autre. En vertu du pouvoir absorbant du caoutchouc pour l'acide carbonique,

(1) Voy. Borodin, *Mémoires de l'Acad. imp. de St-Pétersbourg*, t. 28, n° 4.

ce gaz, malgré son poids spécifique élevé, le traverse plus rapidement que l'air atmosphérique.

En remplissant d'acide carbonique un tube de verre fermé à une de ses extrémités au moyen d'un morceau de feuille de *Nerium Oleander*, et en plongeant l'extrémité ouverte de ce tube dans le mercure, on remarque que celui-ci s'élève assez haut dans l'appareil. Dans cette expérience, on obtiendra aisément une fermeture imperméable à l'air en glissant sur ce tube un anneau de liège, obtenu en perçant un bouchon, de manière que l'ouverture du tube et la surface supérieure de section du liège soient dans un même plan. La surface inférieure de section de cet anneau sera fixée sur le tube à l'aide de cire à cacheter. La surface supérieure sera alors enduite, au moyen d'un pinceau, d'un mélange, fondu dans une capsule en porcelaine, de 2 parties de cire blanche et d'une partie de colophane. Le morceau de feuille de *Nerium* sera déposé sur l'ouverture du tube, sa face supérieure, dépourvue de stomates, tournée vers le bas. La fermeture sera rendue complète en enduisant, du mastic préparé, les bords du fragment de feuille. L'absorption d'acide carbonique par le morceau de feuille, indiquée par l'ascension du mercure dans le tube, est probablement liée, en majeure partie, au contenu d'eau du tissu. Cependant, il est non seulement possible, mais encore tout à fait vraisemblable, que la substance foliaire sèche possède aussi un pouvoir absorbant considérable pour l'acide carbonique. De nouvelles recherches seraient évidemment très désirables. Toutefois, il est certain aussi que l'échange des gaz de la plante et de l'atmosphère, s'il se fait essentiellement, ne se produit pas exclusivement, au moyen des stomates. Les gaz, au contraire, peuvent aussi traverser l'épiderme cuticularisé (1).

62. Le système intercellulaire des plantes.

Les espaces intercellulaires des plantes, d'une si grande importance pour les échanges gazeux, l'aération et la production de vapeur d'eau, dont il sera question en un autre endroit, se rencontrent non seulement entre les cellules du parenchyme, mais encore en d'autres régions. Ils sont d'origine schizogène ou d'origine lysigène, et, dans ce dernier cas, ordinairement de grand diamètre. Dans le parenchyme, les espaces intercellulaires forment généralement des canaux triangulaires, communiquant entre eux, situés entre les arêtes arrondies des cellules. Examinons d'abord au microscope des sections transversales minces des cotylédons de graines de *Lupinus luteus*. Pour ces coupes,

(1) Des indications sur la bibliographie se trouvent dans : Detmer, *Lehrbuch d. Pflanzenphysiologie*, 1883, p. 97, et Pfeffer, *Handbuch d. Pflanzenphysiologie*, vol. 1, p. 86. Des recherches expérimentales intéressantes sur ce sujet ont été faites notamment par N. J. C. Müller, *Jahrbücher f. wiss. Bot.* de Pringsheim, vol. 7.

on emploiera de préférence des graines quelque peu gonflées. On observera immédiatement la présence, entre les cellules, d'espaces intercellulaires assez étroits. Ces espaces aérifères sont naturellement d'une importance particulière pendant le cours normal de la germination, qui est liée à un échange énergique de gaz. On pourra trouver facilement aussi des espaces intercellulaires entre les cellules

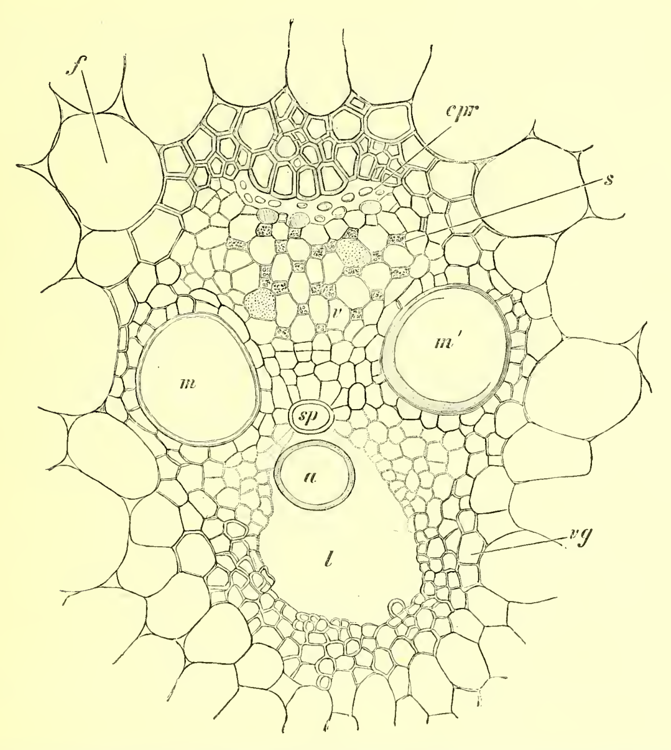


Fig. 45. — Section transversale d'un faisceau libéro-ligneux pris dans la partie inférieure d'un entrenœud caulinaire de *Zea Mays*. *a*, anneau d'un vaisseau annelé ; *sp*, vaisseau spiralé ; *m* et *m'*, vaisseaux ponctués non aréolés ; *v*, tubes criblés ; *s*, cellules annexes ; *cp*, cellules écrasées du protophloème ; *l*, lacune aérifère ; *vg*, gaine ; *f*, cellules du tissu fondamental (d'après Strasburger). Gros. 180.

des cotylédons de *Lupinus* qui ont verdi et se sont soulevés au-dessus du sol.

Nous pratiquerons ensuite des sections transversales dans un entrenœud de *Zea Mays* (voy. fig. 45). Les plantes desséchées à l'air peuvent parfaitement convenir pour cet usage. Les faisceaux libéro-ligneux ne sont pas rangés en cercle, mais distribués dans la masse générale du tissu fondamental. Les cellules de ce tissu fondamental sont très grandes, et nous apercevons immédiatement les espaces intercellulaires, qui se présentent comme des lacunes triangulaires, assez larges, entre les cellules. Chacun des faisceaux libéro-ligneux collatéraux est enveloppé

d'une gaîne, formée de cellules sclérenchymateuses, ne laissant point entre elles de lacunes. Des tubes criblés s'observent dans le liber, et, dans le bois, plusieurs grands vaisseaux se font immédiatement remarquer. Mais nous voyons aussi un large espace intercellulaire à la partie intérieure du faisceau libéro-ligneux. Celui-ci est d'origine lysigène, tandis que les espaces intercellulaires du tissu fondamental avaient été produits par voie schizogénique.

Les sections transversales de la tige de *Juncus glaucus* montrent au microscope une alternance de tissu vert et de groupes de cellules sclérenchymateuses, en dessous d'un épiderme fortement cuticularisé. En dessous des faisceaux sclérenchymateux, on aperçoit de grands espaces creux remplis d'air ainsi que de nombreux faisceaux libéroligneux, plongés dans le tissu fondamental, et dont le bois et le liber sont facilement reconnaissables. Chaque faisceau libéro-ligneux est pourvu à sa face intérieure et à sa face extérieure d'un amas de cellules sclérenchymateuses. Si on divise un chaume de *Juncus glaucus* suivant sa longueur, on constate que la large cavité située au milieu de la plante n'est pas continue, mais qu'elle paraît divisée en chambres. La cavité du chaume est traversée par de nombreuses plaques cellulaires, appelées diaphragmes; le microscope nous apprend qu'elles sont constituées par des cellules étoilées à plusieurs bras.

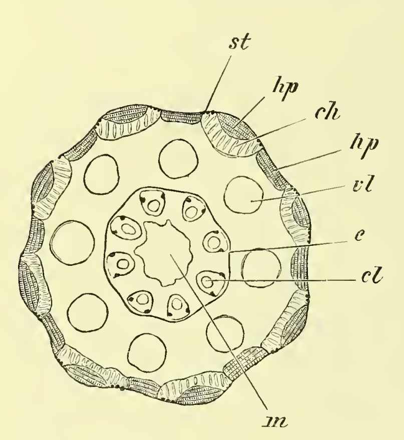


Fig. 46. — Section transversale d'un entrenœud d'une tige végétative d'*Equisetum arvense*. *m*, moelle; *cl*, lacune carinale d'un faisceau libéro-ligneux; *e*, endoderme; *vl*, cavité valléculaire; *hp*, faisceau sclérenchymateux; *ch*, tissu vert, *st*, stomate.

Une section transversale à travers un entrenœud d'une tige végétative d'*Equisetum arvense* montre déjà sous un faible grossissement l'arrangement particulier sous l'épiderme : d'une part, du parenchyme vert; d'autre part, des faisceaux sclérenchymateux hypodermiques (voy. fig. 46). Un tissu cortical à grandes cellules fait suite vers l'intérieur, entourant les lacunes aérifères appelées lacunes valléculaires. Le cercle des faisceaux libéro-ligneux est entouré d'un endoderme, et chaque faisceau montre nettement son bois et son liber. Dans le bois, se trouve une autre lacune appelée lacune essentielle ou carinale. Remarquons enfin que la moelle est creusée d'une cavité, et qu'il existe des galeries intercellulaires, relativement étroites, entre les cellules de l'écorce et celles de la moelle.

L'examen microscopique d'une section transversale mince à travers le pétiole de *Nymphæa alba* nous montre un épiderme dépourvu de stomates entourant un anneau de collenchyme. Les faisceaux libéro-

ligneux sont disposés en cercle dans la région périphérique du pétiole, mais il s'en trouve encore d'autres, distribués dans le tissu fondamental. Celui-ci est parcouru par des canaux aérifères plus ou moins larges. Dans leurs cavités, proéminent des poils internes étoilés. Chacun de ces poils provient d'une cellule du tissu fondamental qui borde le canal (1).

Les lenticelles.

L'examen d'un rameau de *Sambucus nigra* nous permettra l'étude des corps, si généralement répandus, qu'on appelle lenticelles. Sur les sections transversales provenant de jeunes rameaux, nous constaterons l'existence d'un collenchyme hypodermique immédiatement sous-jacent

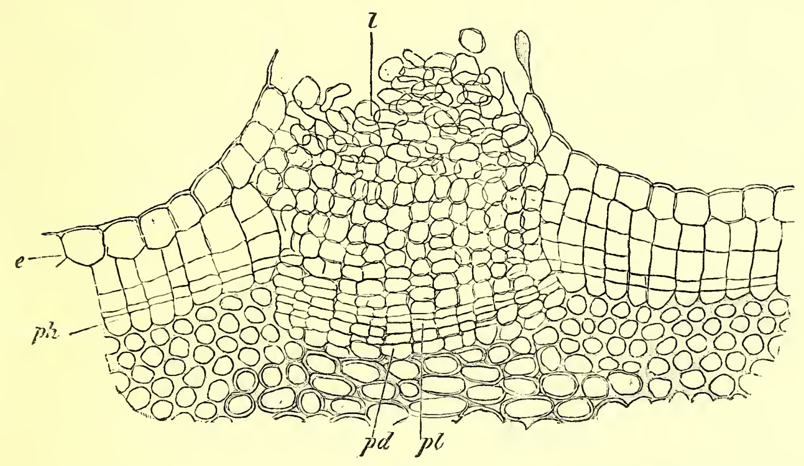


Fig. 47. — Section transversale d'une lenticelle de *Sambucus nigra*. *e*, épiderme ; *ph*, phellogène ; *l*, cellules de remplissage ; *pl*, cambium de la lenticelle ; *pd*, phelloderme (d'après Strasburger). Gros. 90.

à l'épiderme et interrompu, à de certains endroits, par un parenchyme cortical vert qui s'étend alors jusqu'à l'épiderme. Le tissu cortical interne, constitué par des cellules vertes, enveloppe le cercle des faisceaux libéro-ligneux. Si on examine des sections transversales de rameaux plus âgés de *Sambucus*, on observe que l'organe a éprouvé d'importantes modifications. Il s'est produit, immédiatement au-dessous de l'épiderme, un tissu subéreux dont les cellules, colorées en jaune, entourent extérieurement les tissus vivants de l'écorce. Mais cette ceinture n'est pas complète. Les rameaux de *Sambucus* sont recouverts, en effet, par un grand nombre de lenticelles. Celles-ci peuvent être déjà observées à l'œil nu et présentent alors l'aspect de taches brunes. Les sections transversales des rameaux, examinées au microscope, nous montrent

(1) Bibliographie : De Bary, *Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane etc.*, 1877, p. 220, et Strasburger, *Das botanische Praktikum*, seconde édition, Iéna, 1887.

que l'épiderme est déchiré à l'endroit des lenticelles (voy. fig. 47) et que ces dernières sont remplies par une masse cellulaire pulvérulente fortement colorée en brun (cellules de remplissage). On sait que les cellules de remplissage sont produites par le cambium, comme les cellules du phelloderme. Le cambium les forme au fur et à mesure de la désorganisation des rangées extérieures. Elles ne sont pas exactement pressées les unes contre les autres, mais laissent entre elles des méats pleins d'air qui sont en communication avec les espaces intercellulaires. Une expérience de physiologie permettra de vérifier ce fait. On fixe, dans la courte branche d'un tube recourbé, un rameau de *Sambucus nigra* possédant un périderme et des lenticelles : ce que l'on réussira le mieux en employant un mélange de deux parties de cire jaune et d'une partie de colophane que l'on fond dans une capsule de porcelaine et que l'on emploie avec un pinceau chauffé. La surface de section, à l'extrémité supérieure du rameau, sera complètement enduite de ce mastic, et l'appareil, déposé dans un vase cylindrique ou un verre rempli d'eau. Si on verse du mercure dans la longue branche du tube de verre, il sort aussitôt, des lenticelles de l'organe, des bulles de gaz qui s'échappent peu à peu pour être remplacées par de nouvelles. J'ai fait pendant l'hiver des expériences de ce genre sur les rameaux de *Sambucus* : ce qui prouve que les lenticelles ne sont point fermées à cette époque de l'année. Chez certaines plantes, d'ailleurs, il se forme en hiver des cellules de remplissage plus étroitement serrées qu'en été. En effectuant, d'abord en décembre et ensuite au commencement de juin, des expériences, du genre de celle qui vient d'être décrite, sur des rameaux *d'Ampelopsis*, on remarquera qu'il est beaucoup plus facile, en juin, de faire passer de grandes quantités d'air au travers des lenticelles qu'en décembre. Les lenticelles jouent dans les rameaux pourvus d'un périderme un rôle analogue à celui des stomates dans les organes jeunes des plantes. Elles servent, comme ces derniers, à l'aération des tissus (1).

64. Les fentes stomatiques et leur importance pour les échanges gazeux des plantes.

Les feuilles d'*Iris florentina* constituent des matériaux très favorables pour l'étude des stomates. L'examen au microscope de sections transversales minces de ces feuilles montre la présence de grains de chlorophylle dans les cellules stomatiques (voy. fig. 48). La fente stomatique, et la chambre sous-stomatique sont faciles aussi à reconnaître. Le creux en forme de puits qui se trouve au-dessus de la fente stomatique provient de ce que les cellules épidermiques voisines des cellules stomatiques avancent sur celles-ci et les recouvrent partiellement.

(1) Bibliographie : Stahl, *Botan. Zeitung*, 1873, et Klèbahn, *Jenaische Zeitschrift für Medicin und Naturwissenschaft*, Nouvelle Série, vol. 10.

Les stomates des feuilles de *Tradescantia virginica* ne sont pas situés aussi profondément, comme le prouve l'examen de sections transversales minces. Mais ce qui est caractéristique chez eux, c'est qu'ils sont presque toujours entourés de quatre cellules épidermiques renfermant de beaux noyaux faciles à distinguer. Ces détails seront observés sur un fragment d'épiderme enlevé sur la face inférieure de la feuille de *Tradescantia*. La face supérieure de la feuille possède beaucoup moins de

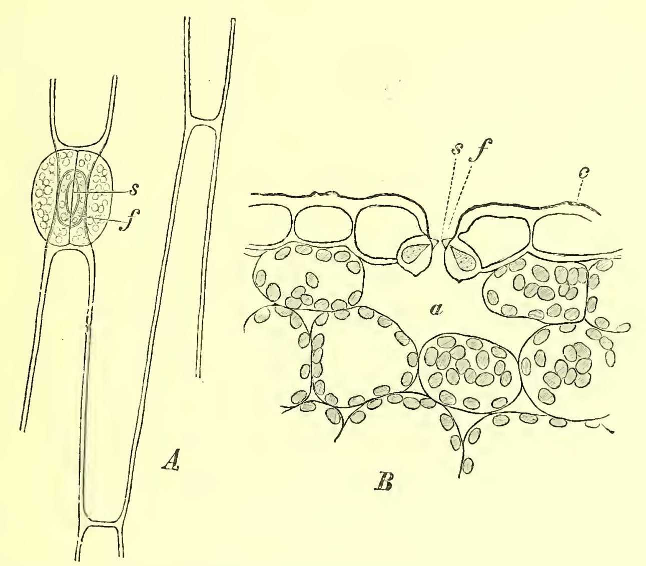


Fig. 48. — Épiderme inférieur de la feuille d'*Iris florentina*. A, vu de face; B, en coupe transversale. *f*, puits; *s*, fente stomatique ; *c*, cuticule; *a*, chambre sous-stomatique (d'après Strasburger). Gros. 240.

stomates que la face inférieure (voy. fig. 49). Les feuilles de *Hyacinthus orientalis* et de *Lilium candidum* constituent aussi de bons matériaux pour l'étude des stomates.

Lorsqu'on s'occupe de l'examen des stomates, on reconnaît bientôt que, sur le même espace, le nombre des stomates présente dans les feuilles de diverses plantes des différences très importantes, suivant que l'on considère la face supérieure ou la face inférieure des feuilles. Voici, par exemple, d'après Weiss (1), le nombre des stomates par millimètre carré de surface foliaire chez :

	Face supérieure.	Face inférieure.
Acer platanoides	0	550
Brassica oleracea	219	301
Helianthus annuus	175	325
Ficus elastica	0	145
Orchis latifolia	20	67
Nymphaea alba	460	0
Syringa vulgaris	0	330

(1) Voy. Weiss, in *Jahrbücher f. wissenschaftl. Botanik* de Pringsheim, V. 4.

Les calculs de stomates sont évidemment pénibles, mais on les effectue au moyen d'une méthode très simple. On enlève un lambeau d'épiderme de la face supérieure ou de la face inférieure d'une feuille développée, et on le dépose dans une goutte d'eau sur un porte-objet. On le recouvre ensuite d'une lamelle et on compte le nombre de stomates que l'on aperçoit dans le champ visuel du microscope. Une série d'observations de ce genre conduit à une moyenne. La grandeur réelle du champ de vision est facile à établir. Au moyen d'un micromètre pour objectif, on mesure le diamètre du champ visuel; la valeur trouvée permettra de calculer la surface du champ. Il suffira alors de chercher le nombre de stomates compris dans l'unité de surface, par exemple un millimètre carré.

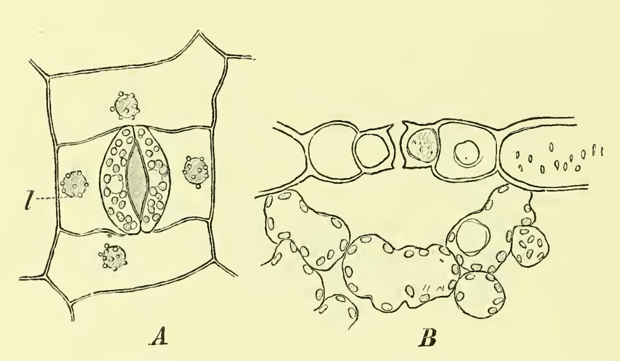


Fig. 49. — Épiderme inférieur de la fleur de *Tradescantia virginica*. A, vu de face; B, en coupe transversale; *l*, leucoplastes (d'après Strasburger). Gros. 240.

L'étude des stomates des végétaux nous amène à parler d'une propriété qui est d'une grande importance pour les échanges gazeux et pour le phénomène de la transpiration, dont nous aurons à nous occuper plus tard. L'ouverture qui existe entre les cellules stomatiques n'a pas toujours la même largeur. On peut facilement constater que la fente stomatique, plus ou moins ouverte dans certaines circonstances, se referme, au contraire, dans d'autres. Ce phénomène remarquable est dû aux variations de turgescence des cellules stomatiques et des cellules épidermiques, voisines des stomates. Sans entrer dans des détails compliqués sur les rapports qui existent entre les cellules stomatiques et les cellules épidermiques voisines, nous montrerons expérimentalement les faits principaux (1).

Nous examinerons d'abord une section tangentielle pratiquée dans une feuille d'*Amaryllis formosissima*, coupée pendant la matinée. Les stomates sont ouverts. Si nous avions employé, au contraire, une feuille à demi-flétrie, nous eussions trouvé les stomates fermés. Il sera bon d'examiner les coupes à l'état sec et de ne leur fournir de l'eau qu'après avoir pu constater que les stomates des feuilles flétries étaient fermés. L'addition d'eau provoque, au bout de quelques minutes, une

(1) Bibliographie : Mohl, *Botan. Zeitung*, 1856; Schwendener, *Monatsberichte d. Berliner Akademie d. Wiss.* 1881, et Leitgeb, *Mittheilungen d. botan. Instituts zu Graz*, vol. I, Iena, 1886.

large ouverture des stomates, par suite de l'augmentation considérable de la turgescence des cellules stomatiques. Un long séjour dans l'eau déterminera de nouveau la fermeture de la fente, parce que la turgescence des cellules épidermiques va en augmentant graduellement et finit petit à petit par vaincre la résistance que leur opposent les cellules stomatiques.

Les stomates d'un grand nombre d'autres végétaux se comportent de la même manière que ceux d'*Amaryllis*. Nous observerons au contraire des phénomènes inverses dans les plantes dans lesquelles les cellules les plus proches des cellules stomatiques ne possèdent pas une importance spéciale pour le stomate. Des lambeaux d'épiderme enlevés aux feuilles d'*Orchis* (j'ai expérimenté sur l'*O. mascula*) et examinés dans l'eau, montrent que les fentes stomatiques ne se ferment point, mais demeurent ouvertes. En déposant les coupes sur un porte-objet dans une goutte de solution de saccharose, on voit que ce réactif détermine assez rapidement la fermeture des fentes stomatiques.

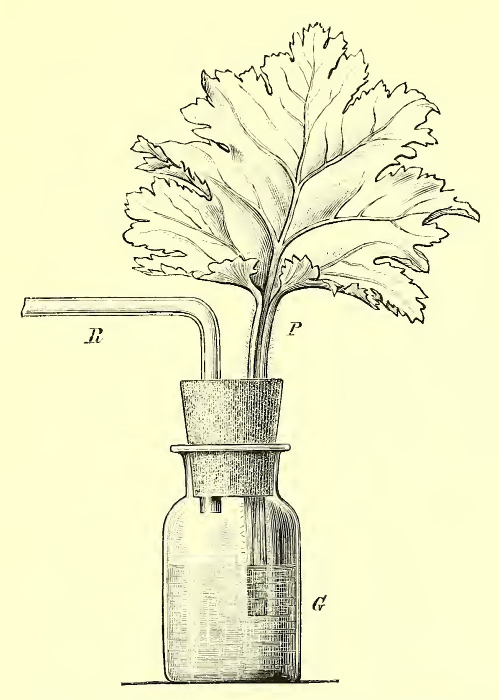


Fig. 50. — Appareil servant à montrer la pénétration de l'air dans les fentes stomatiques.

Dans beaucoup de plantes, les stomates sont influencés par l'action de la lumière. Pendant la nuit, les stomates d'*Amaryllis formosissima*, par exemple, sont fermés. La lumière solaire directe les ouvre davantage, et quand on plonge brusquement dans l'obscurité des plantes d'*Amaryllis* exposées à la lumière, on trouve au bout de quelques heures les fentes stomatiques fermées. Dans des recherches concernant l'influence de la lumière sur les stomates d'*Orchis mascula*, je n'ai pu observer de différence sensible entre l'ouverture de la fente chez des feuilles éclairées et chez des feuilles tenues dans l'ombre. Leitgeb, récemment, a obtenu un résultat identique avec les *Orchis* (voy. son travail, cité plus haut).

On obtiendra des résultats très remarquables en expérimentant l'action du courant d'induction sur les stomates. On arrache un lambeau d'épiderme de la face inférieure d'une feuille, dont les fentes

stomatiques peuvent s'ouvrir largement. J'obtenais les meilleurs résultats en faisant usage de feuilles d'*Orchis mascula*, cueillies pendant la journée et ayant séjourné pendant quelque temps dans l'eau. Les lambeaux d'épiderme étaient placés sur le porte-objet, décrit dans le § 51 et représenté par la fig. 38, destiné à l'étude de l'action exercée par l'électricité sur les cellules végétales. Les stomates sont placés sous le microscope, et on fait agir le courant d'induction sur les matériaux d'étude. Les stomates se ferment en peu de temps sous l'œil de l'observateur.

Il est très instructif de montrer expérimentalement que les fentes stomatiques sont des conduits ouverts et de sortie des espaces intercellulaires. On effectuera d'abord l'expérience qui va suivre, au moyen d'une feuille non flétrie de *Primula sinensis*. On emploiera l'appareil que représente la fig. 50. Le vase en verre G, à demi rempli d'eau est fermé au moyen d'un bouchon en caoutchouc muni de deux ouvertures. Une des branches d'un tube en verre, courbé à angle droit R, s'ouvre immédiatement en-dessous du bouchon, et le pétiole de la feuille de *Primula* plonge dans l'eau. En raréfiant l'air dans l'appareil, par aspiration au moyen de la bouche, de l'air est attiré dans les fentes stomatiques de la feuille, et il se forme un courant de bulles qui se dégagent de la surface de section du pétiole, placée sous l'eau. Si on expérimente sur d'autres feuilles, il arrive fréquemment que l'aspiration au moyen de la bouche ne produit pas une raréfaction suffisante du gaz dans l'appareil pour déterminer la sortie d'air de la surface de section du pétiole. Dans ce cas, pour obtenir une raréfaction plus considérable, l'extrémité du tube R sera mise en communication avec la pompe pneumatique.

On pourra montrer aussi, en procédant d'une façon inverse, que l'air comprimé dans le pétiole se répand dans les espaces intercellulaires et s'échappe par les fentes stomatiques. J'ai employé pour ces recherches, entre autres matériaux, les feuilles de *Primula sinensis*. En introduisant dans la bouche la surface de section du pétiole et en soufflant vigoureusement à l'intérieur de l'organe, on remarque que des bulles d'air, les unes plus grosses, les autres plus petites, se dégagent de la lame de la feuille quand on la plonge dans l'eau. De chaque fente stomatique ne sort pas un fin courant de bulles, comme on pourrait peut-être s'y attendre, mais l'air chassé forme de grosses bulles qui s'échappent de la lame foliaire à de certains endroits. Si on fait séjourner la lame foliaire de primevère pendant quelque temps dans l'eau, on ne pourra plus en faire sortir de l'air par simple insufflation. Les fentes stomatiques subissent peu à peu un engorgement causé par l'eau retenue par capillarité, et qu'on provoque très rapidement chez le *Primula sinensis* en procédant de la manière qui va suivre. On appliquera les lèvres sur la surface de section de la feuille et on aspirera l'air de cet organe en maintenant la lame dans l'eau. Les stomates et le

espaces intercellulaires seront ainsi injectés d'eau ; ce qui produira un changement de coloration de la lame foliaire et la rendra aussi plus transparente. Une forte insufflation ne parviendra plus à faire passer de l'air à travers la feuille. Au moyen de l'appareil que représente la fig. 51, on pourra prouver à l'évidence que l'eau retenue par capillarité peut faire équilibre à une pression d'une certaine importance. L'extrémité de la branche la plus courte d'un tube de verre courbé, de quelques millimètres de diamètre, sera effilée en un capillaire extrêmement étroit. On placera ensuite le tube dans un vase cylindrique de verre rempli d'eau, de manière que l'ouverture du capillaire soit de quelques centimètres au-dessous du niveau du liquide. On versera alors du mercure dans la longue branche du tube jusqu'à ce que la pression ait atteint environ 20 centimètres. Un fin courant de bulles d'air s'échappera par l'étroite ouverture du tube. Le mercure descendra peu à peu dans la longue branche, s'arrêtera lorsque la pression ne sera plus que de quelques centimètres, et le courant de bulles d'air s'interrompra aussi. L'eau ferme par capillarité l'étroite ouverture du tube, et la pression mercurielle qui existe encore, fait équilibre à la force qui retient l'eau dans le tube capillaire.

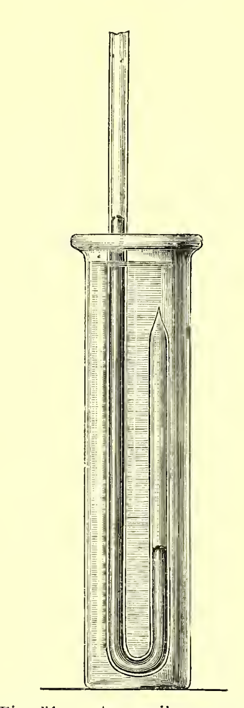


Fig. 51. — Appareil pour mesurer la perméabilité des tubes capillaires pour l'air.

On plonge sous l'eau : soit les lames foliaires de *Caltha palustris* ou de *Nymphaea*, soit une partie de la feuille d'*Allium Cepa*, puis on souffle dans le pétiole des deux premières espèces de feuilles ou dans la partie ouverte de la feuille d'*Allium*. Ce procédé très simple permet de comprimer de l'air dans ces matériaux d'étude. La surface de la partie immergée de la feuille d'*Allium* est d'un blanc d'argent. Elle est recouverte d'une couche d'air qui détermine une réflexion totale de la lumière. Si, en frottant la feuille du doigt, on enlève en certains endroits la couche d'air qui y adhère, les points alors mouillés prennent une coloration verte. Lorsqu'on souffle à l'intérieur de l'extrémité ouverte, il ne sort de l'air de la feuille qu'aux endroits où elle possède un revêtement d'un blanc d'argent. Les endroits mouillés ne laissent échapper aucune bulle d'air, parce que leurs fentes stomatiques sont bouchées par l'eau qui est retenue par capillarité, et que la pression relativement minime exercée n'est pas suffisante pour chasser l'eau des stomates.

Il est fréquemment utile aussi pour montrer le passage de l'air à

travers les stomates d'employer la méthode qui va être décrite. On fixe la partie inférieure d'un pétiole portant une feuille intacte, ou d'une tige feuillée (j'ai employé, par exemple, l'extrémité supérieure d'une pousse de *Camelia* portant un bourgeon et une feuille) sur la petite branche d'un tube de verre recourbé. La fermeture hermétique du tube s'obtient de diverses manières, en s'inspirant des circonstances. Il suffit souvent d'employer un mélange, fondu dans une capsule en porcelaine, de deux parties de cire jaune et d'une partie de colophane, que l'on étend à l'aide d'un pinceau. Dans d'autres cas, on se servira d'un tube de caoutchouc, ou bien on fermera l'ouverture du tube au moyen d'un bouchon percé d'une ouverture, dans laquelle on introduira le pétiole ou le morceau de tige, et qu'on recouvrira d'un mastic formé au moyen de cire et de colophane. En versant du mercure dans la longue branche du tube recourbé et en plaçant l'appareil dans un vase cylindrique en verre rempli d'eau, on voit que l'air comprimé s'échappe par les fentes stomatiques de la lame foliaire et que des bulles d'air plus ou moins grandes s'élèvent dans l'eau (1).

65. La tension positive et la tension négative des gaz dans les plantes.

Dans les espaces intercellulaires des plantes submergées, dépourvues ordinairement de stomates, l'air est fréquemment soumis à une pression positive. Celle-ci peut se produire de diverses manières; mais l'activité de l'assimilation chez les organes verts des plantes sous l'action de la lumière solaire mérite, sous ce rapport, une attention toute particulière. Lorsqu'on expose un rameau d'*Elodea*, plongé dans l'eau ordinaire, à l'action de la lumière solaire directe, sa surface de section laisse échapper un courant de bulles dont on s'est occupé d'une façon spéciale dans le § 11. Ce dégagement d'oxygène cesse à peu près aussitôt que l'on retire la lumière aux matériaux d'étude. Des individus entiers d'*Elodea* et de *Ceratophyllum*, ou des rameaux de ces plantes (j'ai expérimenté sur des rameaux d'*Elodea*) dont la surface de section a été enduite de cire, ne laissent point échapper de bulles de gaz lorsqu'on les expose dans l'eau à l'action de la lumière solaire directe; l'oxygène produit s'accumule alors dans les espaces intercellulaires. Ce gaz ne passe pas dans l'eau par osmose au fur et à mesure de sa production, de sorte qu'il possède bientôt une tension positive dans les espaces intercellulaires. Si l'on pique la tige d'une plante à l'aide d'une aiguille, il se dégage immédiatement à l'endroit blessé un courant rapide de bulles, qui, évidemment, ne tarde pas à diminuer. Si l'on répète cette expérience

(1) Pour ce qui concerne ce sujet, voyez surtout Sachs, *Handbuch der Experimental physiologie der Pflanzen*, 1865, p. 552.

sur des plantes qui ont séjourné dans l'eau et à l'obscurité pendant quelque temps, la blessure ne provoquera plus le dégagement d'une grande quantité du gaz, parce que l'anhydride carbonique produit par la respiration ne peut exercer aucune influence sensible sur la tension gazeuse dans les espaces intercellulaires. Il se dissout aisément dans l'eau et peut, par osmose, passer sans difficulté des plantes dans le milieu ambiant. Il sera facile de se rendre compte du système intercellulaire de l'*Elodea canadensis* en examinant au microscope des sections transversales de la tige de cette plante. Sous un épiderme assez peu caractérisé, on rencontre un tissu cortical relativement fort développé, enveloppant à son tour un faisceau libéro-ligneux axile. Les cellules du tissu cortical laissent entre elles de petits méats intercellulaires; de plus, il existe dans l'écorce un cercle de grands canaux aérifères.

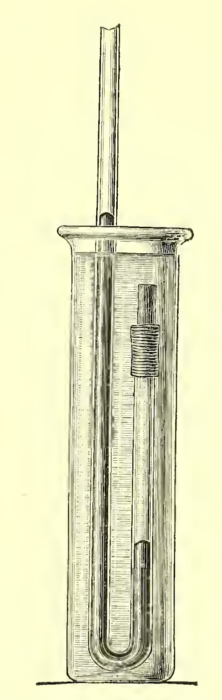


Fig. 52. — Appareil pour mesurer la perméabilité des vaisseaux ligneux pour l'air.

Dans certains cas, l'air des espaces intercellulaires peut cependant aussi posséder une tension négative, c'est-à-dire plus, faible que l'air atmosphérique. Cette tension négative peut être amenée par diverses circonstances; mais, ici, je n'en examinerai qu'une. Lorsque les branches d'arbre sont rencontrées par les rayons solaires directs, leur tissu cortical prend souvent une température supérieure à celle de l'atmosphère. Les gaz se dilatent alors dans les espaces intercellulaires et s'échappent par les lenticelles, s'il en existe. L'air a, par conséquent, alors une tension moindre dans les espaces intercellulaires que dans l'atmosphère. L'expérience qui va suivre est très instructive à cet égard. Une branche, pas trop mince, possédant des lenticelles (j'ai expérimenté sur des branches de *Sambucus* ayant 1 à 2 centimètres d'épaisseur et 10 centimètres de longueur), est recouverte à ses deux extrémités d'un enduit imperméable à l'air. Si on plonge cette branche dans l'eau à 30° C. environ, on observe un dégagement de bulles gazeuses par les lenticelles. Ce dégagement est dû à la dilatation considérable éprouvée par le gaz dans les espaces intercellulaires, sous cette forte élévation de température.

Un fait d'une importance considérable pour la compréhension d'un grand nombre de phénomènes de la vie végétale, c'est que les gaz possèdent surtout une forte tension négative dans les éléments ligneux au moment où la transpiration est très active. Nous aurons plus tard l'occasion de revenir sur ce fait remarquable, nous nous contenterons d'abord d'attirer l'attention sur quelques phénomènes

qui sont en relation avec la tension négative de l'air contenu dans le bois.

Il faut remarquer, en premier lieu, que le liège, abstraction faite des lenticelles, ne peut laisser passer aucun gaz, même sous des pressions considérables (1). Sur l'ouverture de la petite branche d'un tube de verre courbé, on fixe, au moyen de cire à cacheter, une section transversale de bouchon en liège, obtenue à l'aide d'un rasoir. Si on verse du mercure dans la longue branche du tube, on observe que l'air ne traverse pas la tranche de liège, même sous une forte pression, et on constate, après quelque temps, que le mercure est resté au même niveau qu'au début de l'expérience.

Avant de nous occuper de la tension négative des gaz dans les éléments ligneux, nous fournirons quelques données sur le passage des gaz à travers la cavité et les membranes des éléments ligneux. Sur la courte branche d'un tube de verre recourbé, on fixe, au moyen d'un tube de caoutchouc, un morceau de rameau, de diverses plantes, recouvert de son écorce, de 6 centimètres de longueur et 8 millimètres de diamètre (voy. fig. 52). On verse du mercure dans la longue branche du tube et on place l'appareil dans un vase cylindrique plein d'eau, de manière que le niveau de celle-ci s'élève de quelques centimètres au-dessus de la surface supérieure du morceau de bois. Un grand nombre de bulles d'air s'échappent de la surface lisse de section, ce qui prouve que la cavité des vaisseaux livre passage à l'air. Le mercure descend progressivement dans la longue branche et s'élève dans la petite, jusqu'à ce que la différence de niveau entre les deux branches ne soit plus que de quelques centimètres. Lorsque le mercure est stationnaire, l'eau qui a pénétré de l'extérieur dans les vaisseaux et qui y est retenue par capillarité fait équilibre à la pression exercée par le mercure. Il est facile aussi de comprendre la persistance de cette petite pression de mercure, en effectuant, par exemple, l'expérience sur des morceaux de rameaux de *Vitis* en même temps que sur des morceaux de rameau de *Sambucus*, de *Prunus* ou de *Crataegus*. Par des sections transversales, on pourra aisément constater au microscope que les vaisseaux de la première de ces plantes possèdent un diamètre beaucoup plus grand que celui des autres. Il en résulte que la résistance qu'offre l'eau retenue par capillarité dans les vaisseaux du rameau de *Vitis* doit être moindre que celle de l'eau qui a pénétré dans les rameaux de *Sambucus*, de *Prunus* ou de *Crataegus* (2).

Il semble beaucoup plus important de constater ensuite que les membranes des éléments ligneux sont imperméables à l'air, alors même que ce dernier se trouverait sous une pression considéra-

(1) Voy. WIESNER, *Sitzungsbericht. d. Akademie d. Wiss. zu Wien*, 1879, I. Abth. Bd. 79, Aprilheft.

(2) Voy. SACHS, *Handbuch d. Experimental physiologie d. Pflanzen*, 1865, p. 250.

ble (1). Ce fait est d'une grande importance pour la théorie de la tension négative de l'air dans les éléments ligneux, ainsi que pour la théorie du mouvement de l'eau dans la plante, et il augmente encore d'intérêt lorsqu'on l'associe à cet autre fait, que nous constaterons plus tard, que la même substance ligneuse, si difficilement traversable par l'air, n'oppose presqu'aucun obstacle au mouvement de l'eau.

Pour s'assurer que la substance ligneuse est en réalité très difficilement perméable à l'air, il convient de se procurer quelques morceaux de bois, ayant quelques centimètres de longueur et à peu près l'épaisseur du doigt, que l'on enlève aux plus jeunes couches annuelles de tiges récemment coupées de *Taxus baccata* ou d'*Abies excelsa*. Ces morceaux de bois seront fixés de manière à empêcher l'accès de l'air, au moyen d'un tube en caoutchouc, sur la courte branche d'un tube de verre recourbé. On verse du mercure dans la longue branche et on place le tout dans un vase cylindrique de verre rempli d'eau (voy. fig. 52). Si on expérimente sur des morceaux de bois frais ou, mieux, sur des morceaux de bois frais ayant séjourné dans l'eau pendant quelque temps, une pression de 76 cm. de mercure est souvent insuffisante pour faire pénétrer de l'air dans les matériaux d'étude. Nous verrons, en un autre endroit, que les trachéides du bois ne communiquent pas directement entre elles. Nous verrons également que l'eau peut passer très aisément à travers les membranes qui ferment les ponctuations aréolées des trachéides, mais que l'air ne peut les traverser, même sous une haute pression. Si on constatait à l'aide de l'appareil que nous venons de décrire, que l'air peut être introduit dans les morceaux de rameaux de conifères sous des pressions mercurielles considérables ou même sous des pressions relativement minimes — et, en réalité, ce résultat est parfois obtenu — c'est qu'il existerait de très longues trachéides dans les matériaux d'étude (dans la couronne médullaire, par exemple), ou des espaces intercellulaires qui, d'après Russow, ne font jamais absolument défaut dans le bois des conifères. Lorsque j'expérimentais sur un morceau de rameau décortiqué de *Taxus baccata* de 50 mm. environ de longueur et 6 mm. de diamètre, il s'échappait de l'air de la surface supérieure de section sous une pression mercurielle de 20 cm., et il ne s'en dégageait plus sous une pression de 15 cm.

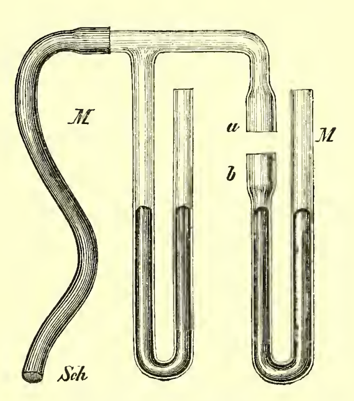


Fig. 53. — Poroscope.

(1) Voy. Sachs, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. 2, p. 324, et M. Scheit *Botanische Zeitung*, 1884, p. 180.

A l'aide du poroscope de Christiani, on pourra montrer également que les trachéides du bois sont imperméables à l'air sous une certaine pression. L'appareil, fabriqué en verre et représenté par la fig. 53, consiste essentiellement, comme on le voit, en deux manomètres. Si on intercale entre *a* et *b* un petit morceau décortiqué d'un rameau de *Taxus* ou d'*Abies*, à l'aide de cire à cacheter, de manière à empêcher l'accès de l'air, et qu'on souffle dans le tube *Sch*, le niveau du mercure dans le manomètre M change considérablement, mais dans le manomètre M′ il n'aura pas varié parce que l'air n'a point traversé le bois. Eût-on employé dans cette expérience le bois riche en vaisseaux d'une plante dicotylée, l'insufflation d'air aurait produit aussitôt un changement de niveau dans les deux manomètres, car les vaisseaux établissent une communication entre *a* et *b*.

L'expérience qui va suivre permet de démontrer pendant la leçon qu'il n'existe aucune communication ouverte entre les gaz des espaces intra-cellulaires aérifères des plantes et ceux des espaces intercellulaires. Nous expérimentons sur des morceaux de branches de *Cornus mas*, de *Philadelphus* et de *Syringa*, ayant 30 centimètres de longueur et 1 centimètre d'épaisseur, abondamment pourvus de lenticelles. On fixe un morceau de rameau dans la courte branche d'un tube recourbé, de manière qu'il pénètre à peu près aux 2/3 dans le tube, en ayant soin de recouvrir au préalable de cire à cacheter, pour empêcher l'accès de l'air, la surface de section qui est introduite dans le tube. Après avoir placé l'appareil dans un vase cylindrique de verre rempli d'eau, on verse du mercure dans la longue branche. Si l'on n'emploie point des pressions mercurielles trop considérables — mais des pressions de 20 à 30 centimètres, par exemple — l'air ne sort que par l'écorce de la surface de section supérieure ; ce qui prouve qu'il n'existe pas de communication entre l'air des vaisseaux et celui des espaces intercellulaires. Si la pression mercurielle est augmentée, l'air s'échappe aussi par le bois des matériaux d'étude, surtout au bout d'un certain temps. L'air des espaces intercellulaires peut être chassé alors dans les éléments ligneux à travers les parois ou, au moins, dans les espaces intercellulaires très étroits, qui, d'après des recherches récentes, ne feraient pas complètement défaut dans le bois (1).

Nous abandonnerons ce sujet pour nous livrer plus spécialement à l'étude des faits connus relativement à la tension négative de l'air dans les vaisseaux. Il est prouvé que les vaisseaux ligneux contiennent des quantités d'eau plus ou moins considérables à certaines époques où la transpiration est minime, par conséquent au printemps et pendant les nuits d'été. Cette eau est utilisée lorsque la transpiration des végétaux est plus active, et, comme la substance ligneuse, d'après ce que nous avons vu, est fort imperméable à l'air, uue pression négative se

(1) Voy. Höhnel, in *Jahrbüchern f. wissensch. Botanik* de Pringsheim, V. 12, p. 72.

produira dans les vaisseaux, c'est-à-dire que l'air des vaisseaux supportera une pression moindre que la pression atmosphérique. La grandeur de la tension négative qui en résulte est très variable; toutefois, il n'est pas démontré que la pression des gaz dans les vaisseaux ne soit pas de très minime importance. Pour nous rendre compte de l'existence de cette tension négative de l'air des vaisseaux, nous effectuerons les expériences qui vont suivre.

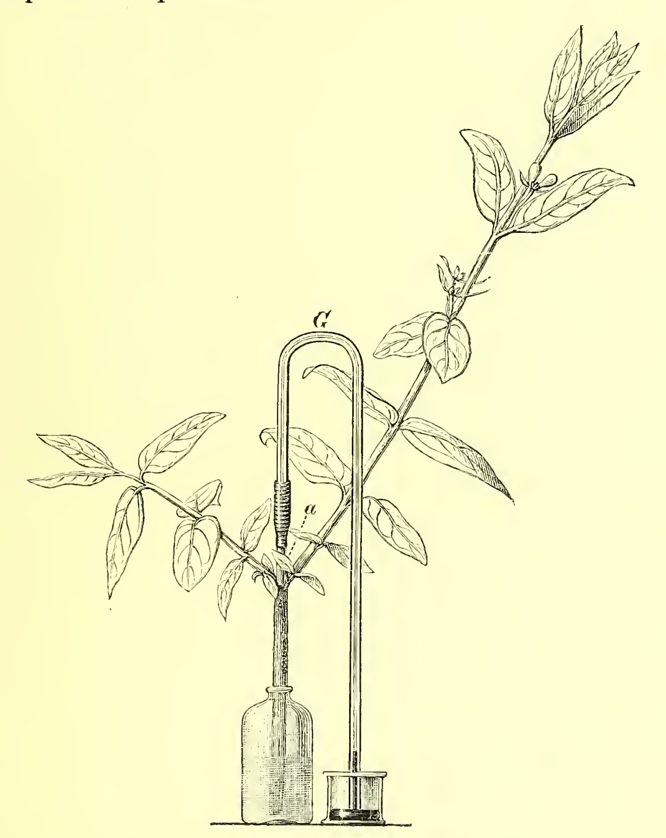


Fig. 54. — Appareil servant à mettre en évidence la tension négative de l'air des vaisseaux.

Nous pratiquerons pendant l'été une cavité dans un bouleau, nous introduirons dans cette cavité une des branches d'un tube de verre courbé à angle droit, de manière à empêcher l'accès de l'air, et nous plongerons dans l'eau l'autre branche du tube. Nous constaterons immédiatement l'ascension de l'eau dans cette branche du tube.

Nous construirons ensuite l'appareil que représente la fig. 54. Une pousse coupée (j'ai expérimenté sur une pousse de *Lonicera*) plonge dans l'eau par sa base. Le tube de verre courbé G est fixé en *a* à la branche, au moyen d'un tube en caoutchouc, de manière à éviter l'accès de l'air,

et son extrémité ouverte est introduite dans l'eau ou dans le mercure. Par suite de la diminution de tension de l'air des vaisseaux, provoquée par la transpiration, le liquide s'élèvera immédiatement dans le tube de verre, comme c'était le cas dans l'expérience précédente.

Pour les expériences qui vont suivre, nous emploierons des pousses d'*Ampelopsis*, de *Phaseolus*, d'*Helianthus*, de *Quercus* ou de *Juglans*, qui, provisoirement, ne seront pas encore séparées de la plante-mère. Les haricots pourront accomplir leur développement dans des pots à fleurs. Les branches d'*Ampelopsis*, de *Quercus* et de *Juglans*, dont nous ferons usage, seront âgées de plusieurs années. Nous les ploierons de façon qu'elles plongent, en un endroit distant de 50 ou 100 centimètres, ou davantage encore, du sommet du rameau, dans une solution aqueuse de vert de méthyle, et, à l'aide de ciseaux, nous les couperons en cet endroit sous la surface de la solution. Les surfaces de section séjourneront encore quelque temps dans la solution, puis, après les avoir soigneusement essuyées, nous examinerons la portion coupée du rameau, ainsi que celle qui est restée sur la plante-mère. La solution de vert de méthyle aura pénétré de quelques centimètres dans les matériaux d'étude, comme il sera facile de s'en apercevoir par la coloration qu'aura pris le bois des matériaux d'étude herbacés ou ligneux. Ces expériences réussiront particulièrement bien, avec les branches d'*Ampelopsis* et de *Phaseolus*, comme j'ai eu souvent l'occasion de le voir, et elles donneront surtout de bons résultats quand on opèrera avec des haricots à demi-flétris cultivés en pots ou lorsqu'on coupera les rameaux de vigne-vierge pendant des journées d'été très chaudes et très sèches.

Les phénomènes observés prouvent l'existence de la tension négative de l'air dans les vaisseaux, car l'élévation considérable de la solution de vert de méthyle dans les organes végétaux ne peut se produire que si la pression de l'air atmosphérique fait monter le liquide dans les vaisseaux. Il est facile de démontrer que l'ascension de la solution de vert de méthyle n'est pas occasionnée à peu près uniquement par la capillarité. Si on coupe les rameaux de ces plantes dans l'air et qu'on les plonge immédiatement par leur surface de section dans la solution de vert de méthyle, celle-ci ne s'élèvera que très peu dans les vaisseaux, parce que l'air a pu y pénétrer et que la tension de l'air dans les vaisseaux n'est plus négative. Il est clair que la capillarité, qui n'a fait pénétrer à l'intérieur des vaisseaux qu'une si petite quantité de liquide dans cette dernière expérience, a agi de la même façon dans la précédente.

Nous modifierons ensuite quelque peu nos expériences, et nous plongerons nos rameaux dans le mercure en un endroit distant de leur sommet d'environ 50 centimètres, puis nous les couperons sous la surface du mercure. L'extrémité supérieure du rameau sera enlevée du mercure au bout de quelques secondes, puis décortiquée. Nous trouverons un grand nombre de lignes grises courant parallèlement les unes aux autres, déjà visibles extérieurement et s'élevant jusqu'à une hauteur

considérable dans les vaisseaux du bois par l'effet de la pression atmosphérique. Si on plonge dans le mercure des rameaux coupés dans l'air, de manière que leur extrémité inférieure soit de quelques centimètres au-dessous de la surface du mercure, le métal ne s'élève généralement pas dans les vaisseaux, parce que la pression mercurielle possède presque toujours une valeur moindre que la dépression capillaire dn mercure.

S'il est, somme toute, facile de constater l'existence de la tension négative de l'air dans les vaisseaux, la détermination exacte de sa valeur est liée à de nombreuses difficultés (1). Il serait à désirer que de nouvelles recherches soient entreprises sur ce sujet.

L'expérience qui va suivre est très instructive et peut être aisément répétée pendant une leçon de physiologie végétale. Nous coupons dans l'air une longue branche d'*Ampelopsis*, nous laissons la surface de section en contact avec l'air pendant quelques minutes, puis nous plongeons la branche par sa base dans l'eau. Après 24 heures, nous ployons la branche et nous la plongeons dans une solution de vert de méthyle en un endroit situé environ 10 centimètres plus haut que la première surface de section, puis nous la coupons sous le liquide. La solution s'élève à une hauteur considérable dans les vaisseaux ; ce qui prouve que la tension négative de l'air des vaisseaux, dans les circonstances indiquées, se rétablit après quelque temps chez les branches coupées dans l'air. C'est là un phénomène dont les causes devraient être exactement connues (2).

V. ABSORPTION DE L'EAU PAR LES PLANTES.

66. Le pouvoir de condensation du sol pour la vapeur d'eau et sa capacité pour l'eau.

Il n'est possible de comprendre exactement des phénomènes qui accompagnent l'absorption de l'eau par les végétaux, qu'à la condition de tenir compte des importants résultats d'expériences obtenus en cherchant les relations qui existent entre l'eau et le sol. Nous ferons donc d'abord quelques recherches sur le pouvoir de condensation de la vapeur d'eau par le sol et sur la capacité du sol pour l'eau. Dans un cristallisoir en verre, on met 10 gr. environ de terre fine (obtenue par le procédé indiqué dans le § 24), complètement desséchée par un sé-

(1) Voy. PFEFFER, *Handbuch der Pflanzenphysiologie*, vol. I, p. 109.

(2) Des recherches sur la tension négative de l'air dans les vaisseaux ont été effectuées notamment par HÖHNEL, in *Wissenschl.-praktische Untersuchungen auf dem Gebiete des Pflanzenbaues* de HABERLANDT, vol. 2, p. 89 et 120, ainsi que par SACHS, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. 2, p. 168.

jour dans une étuve chauffée à 100° C., et provenant d'un sol sablonneux. Un second cristallisoir de verre recevra la même quantité de terre, traitée de la même façon, d'un sol argileux. Ces deux cristallisoirs seront alors déposés dans un endroit contenant beaucoup de vapeur d'eau, mais non saturé de vapeur afin de ne point provoquer le dépôt de rosée. Les vases, avec leur terre, seront placés, par exemple, dans une caisse où l'air a accès et dans laquelle se trouve un vase contenant de l'eau. Le degré d'humidité de l'air dans la caisse est indiquée par un psychromètre. Si on repèse longtemps après (12-48 heures) la terre employée, on observe qu'elle a augmenté de poids par suite de la condensation, qu'elle a effectuée, d'une certaine quantité de vapeur d'eau. La terre fine d'un sol argileux, formée cependant de particules très petites, aura condensé plus d'eau que celle qui provient d'un sol sablonneux, car les particules de la première possèdent une plus grande surface totale que celles de la seconde.

Dans la détermination de la quantité d'eau qui peut être absorbée par le sol, il est d'abord à remarquer que les anciennes méthodes, employées d'ordinaire jusqu'à présent, ne conduisent à aucun résultat positif, car elles ne permettent presque pas de tenir compte des phénomènes auxquels le sol est soumis dans la nature. A. Mayer, le premier, a clairement démontré les imperfections des anciennes méthodes; d'après lui, la détermination de la capacité du sol pour l'eau doit être faite de la manière que nous allons indiquer.

On se sert d'un vase cylindrique en zinc, dont la base mesure 25 cm. carrés et dont la hauteur est de 20 cm. (pouvant contenir, par conséquent, 1/2 litre environ), possédant un fond criblé sur lequel on a déposé un morceau de fine toile. Ce vase sera à demi rempli de terre desséchée ou de terre fine, en le frappant contre un sol mou et en ayant soin d'introduire la terre à examiner par petites portions dans le vase, de manière que les particules de terre forment une masse régulièrement compacte. On y versera ensuite de l'eau, jusqu'à ce qu'elle dégoutte à la partie inférieure du vase; sans rien peser. Ce n'est que lorsque l'excès d'eau aura disparu qu'on déterminera le poids de l'appareil; puis on le remplira jusqu'au bord de terre sèche, en observant les mesures de précaution indiquées plus haut. On le pèsera de nouveau, on versera derechef de l'eau et on cherchera enfin son poids après que l'eau versée se sera égouttée. Il sera alors facile d'établir la quantité d'eau versée qui a pénétré en dernier lieu dans la terre. Le nombre ainsi obtenu sera comparé au volume de terre employé. Pour cela, on cherche le poids spécifique apparent de la manière indiquée plus haut, c'est-à-dire le poids de l'unité de volume de terre desséchée ou de terre fine des matériaux d'étude employés, en remplissant un vase d'une capacité de 100 c. c. de la terre à examiner, et en le pesant. Si le poids de l'unité de volume d'une terre est égal, par exemple, à 1,3 (celui de l'eau étant représenté

par 1), il suffira de multiplier par 1,3 le nombre qui exprime en % la capacité du sol pour l'eau, pour obtenir la capacité pour l'eau de 100 parties en volume de terre.

Les nombres fournis par cette méthode représentent la capacité minima ou absolue du sol pour l'eau. Dans des recherches comparatives, on voit clairement que les terres argileuses et humiques ont la propriété de retenir une plus grande quantité d'eau que les terres sablonneuses.

On obtenait des résultats moins satisfaisants par l'ancienne méthode parce qu'elle ne tenait pas suffisamment compte des conditions qui interviennent dans la nature. Elle consistait à porter les matériaux d'étude sur un entonnoir, à les saturer d'eau, puis à constater la quantité de liquide demeurée dans la terre après avoir laissé égoutter l'eau en excès. Les fins capillaires du sol retiennent d'ordinaire seuls de l'eau dans la nature. C'est cette quantité d'eau qui doit être avant tout constatée dans la détermination de la capacité du sol pour l'eau; il est donc facile de comprendre que la nouvelle méthode conviendra mieux que l'ancienne (1).

67. Autres observations sur les relations qui existent entre le sol et l'eau.

Pour étudier la propriété que possède le sol d'aspirer l'eau par capillarité, des tubes en verre, de 30 cm. de longueur et de 1-2 cm. de diamètre, fermés à leur partie inférieure par un morceau de toile, sont remplis progressivement, en leur imprimant de petits chocs, de la terre fine du sol à examiner ou même de terre non préparée. Les appareils plongent leur partie inférieure à 2 cm. sous la surface de l'eau et sont laissés en repos pendant quelques jours. De temps à autre, on détermine la hauteur à laquelle l'eau s'est élevée. On voit ainsi que l'eau monte d'abord plus lentement dans la terre argileuse que dans une terre sablonneuse, mais qu'elle atteint finalement une plus grande hauteur dans la première que dans la seconde.

S'il s'agit de chercher la vitesse avec laquelle l'eau peut pénétrer dans la terre desséchée à l'air et la profondeur à laquelle elle peut parvenir, les tubes seront remplis de terre et on versera dans chacun d'eux une couche d'eau de 4 ou 6 cm. de hauteur. Les observations à effectuer s'indiquent d'elles-mêmes (2).

68. L'absorption de l'eau du sol par les racines.

Les diverses particules d'un sol plus ou moins humide possèdent

(1) Voy. A. Mayer, *Lehrbuch der Agriculturchemie,* 3e édit., 2e div. p. 140, Detmer *Lehrbuch d. Bodenkunde,* 1876, p. 277, et E. Wolff, *Anleitung zur Untersuchung bodenwirthschaftl. wichtiger stoffe,* 1875, p. 64. On trouvera encore d'autres données bibliographiques dans ces ouvrages.

(2) Voy. les travaux cités dans le § 66.

une enveloppe aqueuse. Si on se représente cette dernière comme partagée en couches concentriques, il est clair que les molécules d'eau contiguës aux particules du sol seront plus énergiquement retenues que celles qui se trouvent plus près de la périphérie. En fait, c'est là ce qui se passe, comme nous le prouve l'expérience qui va suivre. Nous cultivons un haricot dans un pot à fleurs. La plante croit dans une bonne terre de jardin, et lorsque ses premières feuilles ont atteint une grandeur considérable, le pot est placé à l'abri des rayons solaires directs et dans un endroit où la transpiration est minime. Nous ne fournirons plus d'eau à la plante, de sorte qu'elle se flétrira lentement. Lorsque le flétrissement sera très avancé, nous prélèverons quelques gr. de terre aux points où les racines sont nombreuses, et nous déterminerons exactement, par dessiccation à 100° C., la quantité d'eau que cette terre contient. J'ai trouvé dans certaines expériences, qui n'étaient pas effectuées, il est vrai, sur un *Phaseolus*, mais sur un *Cucurbita*, que la terre de jardin employée renfermait encore 15 % d'eau après le flétrissement des plantes. On voit donc par là qu'une partie de l'eau du sol est fortement adhérente aux particules de terre. Dans les circonstances indiquées, le flétrissement des plantes résulte précisément de ce que les racines ne peuvent point absorber, assez rapidement et en quantité suffisante, l'eau ainsi retenue pour réparer les pertes dues à la transpiration (1).

On prélèvera ensuite dans le pot à fleurs, de petites quantités de terre, pesant quelques grammes, lorsque les plantes seront fortement flétries, et on placera cette terre dans un endroit renfermant beaucoup de vapeur d'eau, mais sans qu'il y ait dépôt de rosée, pour l'examiner dans ces conditions. Il conviendra de placer cette terre, après l'avoir pesée, sous une caisse dans de petits vases à côté d'un psychromètre et d'un bocal contenant de l'eau. L'air de la caisse sera évidemment très humide, et le niveau du mercure dans le thermomètre sec du psychromètre ne sera que légèrement plus élevé que dans le thermomètre mouillé. Malgré cette quantité considérable d'eau dans l'air qui contient les échantillons de terre, non seulement ceux-ci n'en gagnent point par condensation, mais on remarque, au contraire, qu'ils en perdent par évaporation. Nous avons vu dans le § 66, que la terre absolument sèche peut condenser la vapeur d'eau, mais cette propriété du sol n'a point d'importance pour la végétation en général, car la plupart des plantes peuvent se flétrir, nos expériences l'ont montré, lorsque le sol contient cependant encore assez d'eau pour empêcher la condensation de la vapeur d'eau, même dans les conditions les plus favorables.

(1) Voy. Detmer, in *Forschungen auf dem Gebiete der Agriculturphysik* de Wollny, vol. 1, et *Journal f. Landwirthschaft*, 27e année. On y trouvera la bibliographie et d'autres faits se rapportant à l'absorption d'eau par les racines.

69. L'absorption de l'eau par les feuilles.

La question de l'absorption de l'eau par les feuilles n'est pas d'un grand intérêt pour la physiologie; on doit cependant, ici, la traiter brièvement. Chez un grand nombre de feuilles (*Brassica*, *Zea*, *Aristolochia sipho*, etc.), la lame, plongée dans l'eau, se montre enveloppée d'une couche argentée, qui n'est interrompue que sur le trajet des nervures les plus grosses. Lorsqu'on retire ces feuilles de l'eau, on s'aperçoit que la cuticule n'est mouillée que sur les nervures et sur les poils qui peuvent se rencontrer sur la feuille. A cause de la couche cireuse plus ou moins épaisse qui la recouvre, la cuticule entourant le mésophylle, ne peut pas se mouiller et, par conséquent, se conserve sèche, même après immersion dans l'eau. La couche argentée est produite par la présence d'air entre les tissus foliaires et l'eau; ce qui détermine une réflexion totale de la lumière. Si les feuilles séjournent longtemps sous l'eau, leur surface se mouille et la couche argentée disparaît (1). Pendant ce long séjour sous l'eau, ce liquide peut sans doute pénétrer à l'intérieur de l'organe par la cuticule (ou peut-être aussi d'une autre manière). On place dans l'obscurité des feuilles pesées dont la lame est plongée dans l'eau et dont la surface de section du pétiole reste sèche, ce qui peut être obtenu en l'enduisant d'un peu de cire. Après les avoir retirées du liquide depuis quelque temps et les avoir soigneusement essuyées au moyen de papier à filtrer, on constate après un certain temps qu'elles possèdent un poids plus élevé qu'au début de l'expérience. Ce résultat ne peut évidemment être obtenu, que si l'on expérimente sur des feuilles dont les cellules n'étaient pas auparavant à leur maximum de turgescence. J'ai obtenu des résultats particulièrement satisfaisants en plongeant, peu de temps (3 heures) ou longtemps (à peu près 20 heures), dans l'eau par leur base des feuilles de *Coffea arabica* ou de *Syringa vulgaris*, et en ayant soin avant d'effectuer l'expérience de les laisser séjourner pendant 2 heures dans un endroit ombragé, afin qu'elles ne contiennent pas une quantité d'eau trop considérable (2).

70. Quelques mouvements provoqués par l'absorption de l'eau dans les organes végétaux.

Les bractées intérieures de l'involucre de *Carlina acaulis*, plante qui croît dans les terrains secs et calcareux, présentent des phénomènes intéressants lorsqu'elles absorbent de l'eau. Quand on mouille

(1) Voy. SACHS, *Handbuch d. Experimental physiologie d. Pflanzen*, p. 159.
(2) Voy. DETMER, in *Forschungen*... de WOLLNY, vol. 1, Cah. 2, et *Journal f. Landwirthschaft*, 17e année, p. 105.



Fig. 55. — *Carlina acaulis.* Inflorescence dont l'involucre est fermé.

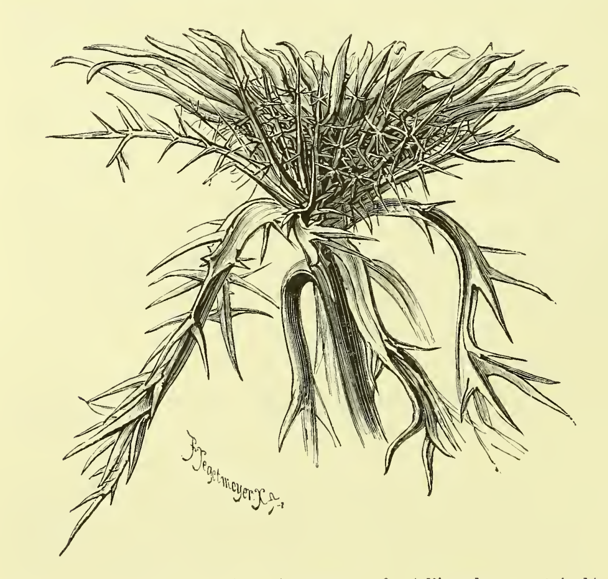


Fig. 56. — *Carlina acaulis.* Inflorescence dont l'involucre est étalé.

entièrement l'inflorescence, toutes les bractées intérieures de l'involucre se rassemblent (fig. 55), et, après dessiccation, s'étalent de nouveau (fig. 56). Ces bractées sont d'un blanc d'argent; seule, la partie moyenne de leur face inférieure est colorée en brun. Si on mouille cette région brune dans une bractée détachée de l'involucre, on aperçoit immédiatement un mouvement dans cette région, et la face inférieure de la bractée devient convexe. Nous pratiquerons aussi des sections transversales minces dans la région moyenne et nous constaterons les particularités que nous allons indiquer. A la partie supérieure et à la partie inférieure de l'organe, se rencontre un épiderme. Les cellules de l'épiderme inférieur sont colorées en brun. L'espace compris entre les lames épidermiques est occupé par un tissu fondamental parenchymateux, parcouru par quelques faisceaux libéroligneux. Ce parenchyme n'est pas appliqué immédiatement contre l'épiderme; il en

est séparé par une couche de sclérenchyme, constituée par 3 rangées de cellules fortement épaissies ne laissant point entre elles de méats. C'est le sclérenchyme qui produit les mouvements que nous avons observés. Lorsque la feuille est mouillée, les cellules qui le composent subissent un allongement beaucoup plus considérable que celles du parenchyme, et elles se raccourcissent aussi plus fortement lors de la dessiccation de la feuille. Les mouvements des bractées de l'involucre de *Carlina* ne sont pas sous la dépendance directe des phénomènes vitaux, car les feuilles mortes, desséchées sont encore susceptibles de mouvements (1).

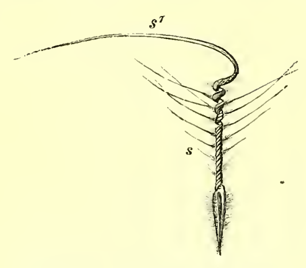


Fig. 57. — Fruit d'*Erodium*.

Lorsqu'on observe les carlines dans leurs stations naturelles, on remarque bientôt que leurs inflorescences restent fermées pendant les temps humides et pluvieux. Sous l'influence de l'humidité qui les pénètre, les feuilles de l'involucre se sont rassemblées pour protéger les fleurs contre l'action des pluies qui pourrait leur être préjudiciable.

Fig. 58. — *Stipa pennata*. Fruit avec sa barbe. 2/3.

L'arête des fruits d'*Erodium* et les graines de *Stipa* montrent, comme les bractées de l'involucre des carlines, des mouvements provoqués exclusivement par l'absorption d'eau, et aussi peu que ceux-là sous la dépendance des phénomènes vitaux. La fig. 57 représente un fruit sec d'*Erodium* avec son arête. La partie inférieure *s* de l'arête est enroulée en spirale, la partie supérieure *s′* ne l'est point. Nous ne placerons un fruit de ce genre que peu de temps dans l'eau (à peu près 1/2 minute) et nous l'enfoncerons ensuite par la base dans un sable léger et humide contenu dans un vase sous une cloche de verre. Le mouvementqui va se produire est facile à suivre. Dans l'air humide, il ne s'arrête que lorsque les replis de la partie inférieure de l'arête ont disparu et que toute l'arête est dressée verticalement. Si on introduit dans

(1) Voy. Detmér, *Journal für Landwirthschaft,* 27e année, p. 110, et Rathay, *Sitzungsberichte der Akadem. d. Wiss.* zu Wien, vol. 83.

le sable humide un fruit mouillé d'*Erodium* et si on oppose une baguette de bois dirigée perpendiculairement, comme obstacle, au mouvement de la partie du bec qui est presque horizontale à l'état sec, le mouvement sera transmis au fruit et, par suite d'une pression verticale sur son sommet, il se vissera dans le sol. Dans la nature, en effet, les fruits d'*Erodium* s'enterrent dans le sol grâce au mouvement particulier de leur arête.

La fig. 58 représente le fruit de *Stipa* et sa barbe. La partie inférieure de la barbe (*s*) est spiralée à l'état sec. La partie *k* est limitée par deux coudes et porte le guidon pourvu de poils de la barbe. Celui-ci est dirigé horizontalement, et quand le fruit sera placé dans les mêmes conditions que celui d'*Erodium* (voyez plus haut), l'absorption d'eau déterminera la pénétration du fruit dans le sol par suite de la torsion en arrière de la partie spiralée de la barbe. Les causes des mouvements dont nous venons de nous occuper, doivent être cherchées dans la structure particulière des cellules de la portion spiralée des fruits d'*Erodium* et de *Stipa*.

71. L'absorption de l'eau par les fruits et les graines.

Il arrive fréquemment que les fruits riches en jus (fruits à noyaux, baies), encore attachés à la plante-mère, se déchirent par les temps pluvieux. La principale cause de ce phénomène est l'arrêt presque complet de la transpiration dans les circonstances indiquées. Les cellules du parenchyme des fruits étant fort turgescentes, les tissus des fruits se dilateront (notamment l'épiderme, qui subira une pression considérable), et, finalement, les fruits se déchireront. Une autre cause peut aussi intervenir, d'une manière secondaire celle-là, dans l'apparition du phénomène; c'est l'absorption de l'eau par les fruits, qui aura pour effet d'augmenter la turgescence des cellules parenchymateuses. Pour constater que cette absorption d'eau a bien réellement lieu, on se servira de cerises ou de raisins intacts, qui, après avoir été exactement pesés, seront placés dans l'eau de manière que leurs pédicelles émergent du liquide, et que l'on essuyera soigneusement après un séjour de 4-8 heures dans l'eau. Les matériaux d'étude, pesés de nouveau, accuseront une augmentation de poids qui n'est point négligeable.

Nous déposons dans l'eau quelques grains de froment. Après 12 heures environ, leur gonflement sera déjà assez avancé et les grains seront devenus mous. Le mince tégument qui les recouvre laisse facilement pénétrer l'eau à l'intérieur des grains. Pour nous rendre compte de la structure anatomique des téguments du fruit et du grain de froment, nous ne chercherons pas à obtenir d'un grain presque complètement ramolli les sections transversales nécessaires, parce qu'un tel grain se laisse difficilement couper mais nous emploierons plutôt un

grain qui n'est pas resté trop longtemps en contact avec l'eau, et, avant qu'elles soient examinées au microscope, les sections transversales, les plus minces possible, seront traitées par une lessive de potasse. Ce réactif, qui gonfle fortement les tissus, montre assez nettement les relations de structure du fruit et de la graine (voy. fig. 59). L'enveloppe du fruit se compose de l'épiderme cuticularisé *ep*, d'une couche parenchymateuse *e* et d'une autre couche cellulaire *chl*, contiguë à cette dernière, dont les éléments sont étirés tangentiellement. L'enveloppe du grain se compose de plusieurs couches cellulaires, mais la structure cellulaire des rangées extérieures *ii* n'est pas bien reconnaissable sur une section transversale, où elles présentent généralement l'aspect de bandes brunes. La couche la plus intérieure *n* de l'enveloppe séminale, placée immédiatement au-dessous des bandes brunes, est formée de cellules transparentes. Le tégument séminal enveloppe l'albumen et l'embyron. Nous aurons l'occasion de revenir plus tard sur cette partie du grain de froment. Remarquons seulement que la couche de l'albumen située immédiatement au-dessous du tégument séminal (couche cellulaire du gluten) est constituée par une rangée unique de cellules, à peu près carrées, ne renfermant que des grains protéiques, qu'on ne peut, évidemment, apercevoir sur une coupe traitée par la potasse. Cette couche est suivie des tissus de l'albumen, plus ou moins riches en amidon.

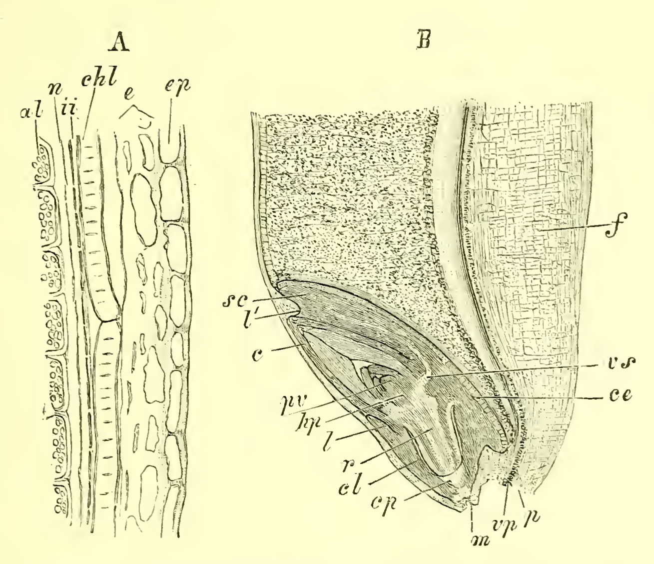


Fig. 59. — *Triticum vulgare*. A. Section transversale des téguments du fruit et de la graine. Dans cette section, l'épiderme *ep*, les couches contiguës à l'épiderme *e*, la couche chlorophyllienne *chl* appartiennent au revêtement du fruit. L'enveloppe séminale est formée par les membranes *i i* provenant du tégument interne, la couche périphérique sclérifiée du nucelle *n*. *al*, couche de l'albumen contenant des grains d'aleurone. Gros. 240 — B. Section longitudinale médiane de la partie inférieure d'un fruit mûr. Dans ce dernier, à gauche en dessous, on voit l'embryon muni de son scutellum *sc*; *l'*, ligule du scutellum; *vs*, faisceau libéro-ligneux de l'embryon; *ce*, son épithélium cylindrique; *c*, gaîne du cotylédon; *pv*, sommet végétatif de la tigelle; *hp*, axe hypocotylé; *l*. ligule de ce dernier; *r*. radicule; *cp*, coiffe de la radicule; *cl*, gaîne de la radicule; *m*, point de sortie de la radicule, correspondant au micropyle de l'ovule; *p*. pédicelle du fruit; *vp*, son faisceau libéro-ligneux; *f*, revêtement latéral du fruit (d'après Strasburger). Gros. 14.

Nous pratiquerons des sections transversales dans des graines de

Lupinus luteus et nous emploierons de préférence des graines déjà légèrement gonflées par l'absorption d'eau. Ces coupes seront examinées dans l'eau et dans une solution de potasse. La cuticule est assez fortement développée et couverte d'un revêtement granuleux (matière cireuse). L'épiderme présente pour nous un intérêt particulier. Il est formé par de longues cellules palissadiques perpendiculaires à la surface de la graine. Leurs parois sont fortement épaissies. Dans certains groupes de ces cellules épidermiques, on constate la présence d'une matière colorante brune; ce qui donne aux graines leur aspect tacheté. Sous l'épiderme, nous trouvons une rangée unique de cellules allongées, laissant entre elles de très larges espaces intercellulaires, et disposées perpendiculairement à la surface de l'organe. Cette couche est suivie d'une autre, composée de plusieurs rangées de cellules allongées tangentiellement, se gonflant fortement sous l'action de la potasse. Cette dernière recouvrant les restes, fortement écrasés, de l'albumen, nous nous trouverons alors en présence du tissu cotylédonaire.

Si on plonge dans l'eau un grand nombre de graines de lupin (une centaine, par exemple), on trouve, longtemps après, au bout de 24 heures, par exemple, et même de 8 à 14 jours, que toutes les graines ne sont pas gonflées. Cette difficulté de se gonfler, qui possède un intérêt biologique considérable, est propre à un grand nombre d'autres espèces que le lupin. Dans le cas qui nous occupe, elle provient de ce que les cellules palissadiques du tégument séminal, encore intactes, ne sont que très difficilement perméables à l'eau à raison de certaines particularités de leurs membranes. Lorsque sa couche palissadique est blessée, la graine de lupin se gonfle toujours facilement au contact de l'eau (1).

Les graines de *Pisum sativum* appartiennent à la catégorie des graines qui se gonflent facilement, comme il est facile de s'en apercevoir en plaçant dans l'eau les matériaux d'étude. La structure du testa de *Pisum* présente quelque analogie avec celui du lupin. Nous enlèverons les téguments de graines gonflées, et nous en détacherons de minces sections transversales pour les examiner dans la potasse. La couche palissadique est suivie ici aussi d'une couche de cellules allongées, puis de plusieurs rangées de cellules parenchymateuses étirées tangentiellement et, enfin, des restes de l'albumen écrasé.

Dans la plupart des graines, le gonflement est le résultat de l'imbibition et de phénomènes osmotiques. Chez quelques-unes, celles de *Linum usitatissimum*, par exemple, le phénomène se produit aisément parce que ces graines laissent échapper au contact de l'eau une substance gélatineuse, qui attire énergiquement l'eau et la retient. Chaque graine s'entoure, en effet, d'une enveloppe gélatineuse dès qu'elle est en

(1) Voy. DETMER, *Journal f. Landwirthschaft*, 27e année, p. 119.

contact avec l'eau. Nous pratiquerons des sections transversales très minces sur des graines sèches de lin, et nous les déposerons dans de l'alcool sur le porte-objet. Puis, pendant que nous les examinerons, nous ferons passer de l'eau du bord de la lamelle aux coupes. Au moment où l'eau atteindra les coupes, les cellules épidermiques du tégument séminal gonfleront fortement et laisseront sortir la substance gélatineuse qu'elles contenaient à leur intérieur. Il sera alors facile de voir que les cellules épidermiques sont dirigées perpendiculairement à la surface de l'organe. Nous ne nous occuperons pas ici des autres couches cellulaires de ce tégument séminal de *Linum*, d'une structure compliquée (1).

72. Autres expériences sur le gonflement des graines.

Des graines différentes absorbent pour être complètement gonflées des quantités d'eau qui varient beaucoup. La capacité de gonflement des graines est, par conséquent, très variable aussi. On détermine le poids de quelques graines de froment et de pois desséchées à l'air. Ces matériaux d'étude sont alors plongés dans l'eau et y séjournent pendant 24 heures, puis on les essuie soigneusement, et, après les avoir pesées de nouveau, on les replace dans l'eau pour les repeser au bout de 6 heures. On pourrait encore effectuer de nouvelles pesées, mais lorsque les matériaux d'étude n'éprouveront plus de changement, on reconnaîtra toujours que les semences de pois contiennent beaucoup plus d'eau que les graines de froment complètement ramollies. Pour se ramollir. les graines de pois absorbent à peu près 100 % de leur poids d'eau, tandis que celles de froment n'en prennent que 40-60 %.

Lorsqu'on emploie un grand nombre de graines (par exemple des haricots, des pois) dans des recherches de ce genre, on remarque immédiatement que le volume des matériaux d'étude gonflés est de beaucoup supérieur à celui qu'ils possèdent lorsqu'ils sont à l'état de siccité. Mais on peut aussi se demander si la somme des volumes d'une quantité donnée de graines et de la quantité d'eau nécessitée par leur gonflement subit des changements par suite du gonflement. L'expérience que nous allons effectuer résoudra cette question. Nous ferons usage de l'appareil que représente la fig. 60, et nous porterons 300 gr. de pois dans un ballon d'une capacité d'environ 600 c. c. (j'ai expérimenté sur des pois blancs géants). Le ballon sera alors complètement rempli d'eau et fermé, immédiatement après, au moyen d'un bouchon en caoutchouc percé de deux ouvertures. Dans l'une de ces ouvertures, on introduira un thermomètre; dans l'autre, un tube droit en verre

(1) Pour ce qui concerne la structure des téguments séminaux, voy. la dissertation de Sempolowski, Leipzick, 1874. On y trouvera aussi la bibliographie principale du sujet.

de 0,5 centim. de diamètre. Le niveau de l'eau dans ce tube pourra être facilement déterminé au début de l'expérience, puis toutes les 5 minutes pendant le cours de celle-ci, au moyen d'une règle graduée en millimètres. On observera ainsi que l'eau s'élève de plus en plus dans le tube. Cette ascension de l'eau dure 3/4 d'heure et parfois aussi 1 heure 1/2, puis l'eau descend pendant peu de temps ou, selon les circonstances, pendant quelques heures, pour monter finalement de nouveau. Dans les recherches qui demandent de la précision, il faudra tenir compte de l'influence de la température sur le niveau de l'eau dans le tube.

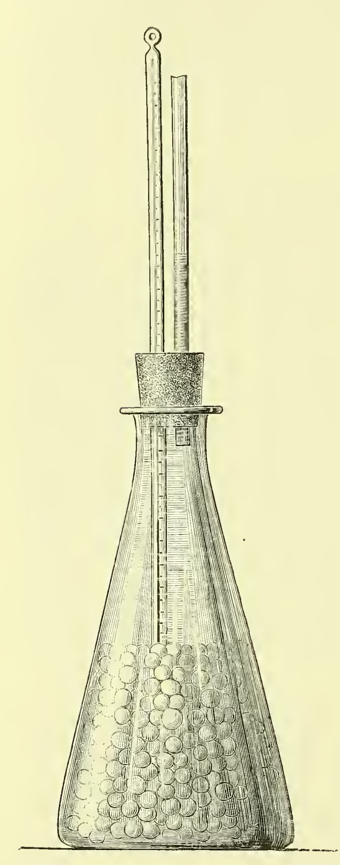


Fig. 60. — Appareil pour l'observation des phénomènes qui accompagnent le gonflement.

Quand les graines viennent en contact avec l'eau, et qu'il se produit ainsi des phénomènes d'imbibition, l'eau qui a pénétré dans les graines doit subir une condensation. Mais un phénomène de ce genre devrait amener une diminution du volume total des graines et de l'eau. Nous n'avons cependant rien observé de semblable dans l'expérience que nous avons effectuée, car au début l'eau s'élevait, au contraire, rapidement dans le tube, de sorte qu'il se produisait une augmentation très nette du volume total de l'eau et des graines. Dans tous les cas, les causes qui la provoquent exercent par conséquent une influence prépondérante sur le niveau de l'eau dans le tube. Elles doivent être recherchées dans le plissement du testa au début du gonflement des semences de pois. Ce testa se détache des cotylédons des graines, il se forme ainsi des cavités remplies d'air raréfié entre les cotylédons et les téguments séminaux : ce qui augmente le volume total des graines et de l'eau. En plaçant dans cet appareil des graines de pois dont le testa a été blessé, j'ai trouvé que l'ascension de l'eau dans le tube ne se produisait pas pendant toute la première phase de l'expérience.

Pendant la seconde, l'eau descend dans le tube; il se produit une diminution du volume total des graines et de l'eau, qui doit être attribuée à la pénétration de l'eau dans les cavités des graines. Je ne m'occuperai pas ici des causes qui déterminent une nouvelle ascension du liquide pendant la troisième phase de l'expérience. Pour ce

qui concerne ce sujet, ainsi que les particularités d'autres graines gonflées, je renverrai le lecteur à un de mes travaux, cité plus haut (1).

73. L'absorption de l'eau par les mousses.

Les mousses ne possèdent pas de véritables racines, mais des rhizoïdes. Pour étudier convenablement ces organes, on choisira le *Bryum caespiticium*, mousse que l'on rencontre fréquemment sur les murs. A l'aide d'un filet d'eau, on écartera aussi bien que possible la terre qui s'attache aux plantes, puis on coupera la partie inférieure d'une tigelle et on l'examinera après l'avoir déposée sur un porte-objet. On remarquera qu'il s'échappe de la tigelle de longs filaments pluricellulaires très larges, colorés en brun, possédant parfois des ramifications plus fines, et dont le sommet seul est incolore. Les cloisons transversales des cellules sont obliques et font exception à la règle si générale de la découpure à angle droit. Les rhizoïdes, dont nous avons à nous occuper ici, ont pour principale mission de fixer la plante dans le sol. Comme organes d'absorption de l'eau, ils ne possèdent qu'une importance secondaire, au moins chez beaucoup de mousses.

Si on dépose une motte de *Hylocomium triquetrum* à l'état humide dans un cristallisoir contenant de l'eau, les parties supérieures des plantes se dessèchent immédiatement. Cette expérience nous apprend qu'il n'existe pas à l'intérieur des mousses une circulation d'eau aussi active et aussi complète que dans le corps des plantes supérieures. En observant avec soin les touffes de *Hylocomium* plongées dans l'eau et dont les sommets sont desséchés, on trouvera d'ailleurs que les tigelles sont mouillées sur une assez grande longueur au-dessus de la surface de l'eau. Dans les mousses, l'eau peut, par conséquent, s'élever jusqu'à une certaine hauteur, et ce sont évidemment des actions capillaires qui déterminent cette ascension. L'eau monte bien jusqu'à une hauteur déterminée dans les cavités étroites qui se rencontrent entre les tigelles et les feuilles étroitement appliquées sur elles, mais toutes les parties de la mousse qui ne sont pas fournies d'eau par cette circulation extérieure doivent nécessairement se dessécher. Si on dessèche soigneusement entre des feuilles de papier à filtrer un pied robuste de *Hylocomium triquetrum*, et qu'on le plonge ensuite par son sommet ou par sa base dans la solution d'une couleur d'aniline (j'ai employé une solution aqueuse de violet de méthylaniline), il est facile d'observer, en effet, que le liquide monte, par capillarité jusqu'à une certaine hauteur. Lorsque des touffes de *Hylocomium* ou de *Hypnum* pesées à l'état sec séjournent environ 20 minutes dans l'eau, puis sont déposées sur une lame de verre placée obliquement, pour laisser dégoutter l'eau

(1) DETMER, *Vergleichende Physiologie des Keimungsprocesses der Samen*, Iéna, 1880, p. 71.

en excès, et pesées de nouveau, on constate que ces mousses peuvent retenir un poids d'eau de plusieurs fois supérieur à leur poids primitif. Le résultat de cette expérience peut nous donner une idée de la quantité d'eau que les mottes de mousses peuvent retenir par capillarité dans les bois. Comme régulateurs de l'humidité, les mousses jouent, en effet, dans certaines contrées un rôle important, sur lequel nous ne pouvons nous étendre ici.

Si on examine des sections transversales des tigelles de *Hylocomium triquetrum*, on trouve que tout leur tissu est constitué par des cellules possédant des parois d'un brun jaunâtre et fortement épaissies. Les cellules périphériques et celles qui sont les plus éloignées du centre (les autres forment une sorte de faisceau central) ont une cavité beaucoup plus étroite que celle des autres cellules. Dans les mousses qui ne possèdent pas un faisceau formé de cellules longuement étirées ou ne possèdent qu'un faisceau peu développé, toute la circulation, alors extérieure, de l'eau se fait par capillarité. Un faisceau central développé semble, au contraire, pouvoir assurer une circulation intérieure, comme le prouvent des expériences faites sur un *Polytrichum.* Il y a, en effet, un faisceau central très développé dans les tigelles de *Polytrichum*, comme on peut le constater en examinant au miscroscope de minces sections transversales, et lorsque je plongeais dans l'eau par leur partie inférieure quelques tigelles de *Polytrichum formosum* étroitement serrées les unes contre les autres, les feuilles supérieures des plantes restaient fraîches. Dans cet état, les feuilles de *Polytrichum* sont écartées de la tige, tandis qu'elles s'incurvent vers le haut lorsque la tige se dessèche.

Un intérêt particulier s'attache aussi à la façon dont les *Sphagnum* attirent l'eau de l'extérieur et la retiennent. Pour comprendre ce phénomène, il suffira de quelques indications sur la structure de leurs feuilles. Nous soumettrons des feuilles de *Sphagnum acutifolium* à l'examen microscopique. Les touffes, vertes, rougeâtres ou d'un rouge intense, de cette mousse sont faciles à trouver. Chaque feuille adulte est formée de cellules chlorophylliennes reliées en un réseau avec des cellules incolores mortes, contenant de l'eau ou de l'air, encadrées par les premières, et dont les membranes munies d'épaississements spiralés ou annelés sont percées de véritables trous. Les cellules retiennent l'eau qui pénètre par ces orifices, de sorte que la touffe de sphaignes peut déjà, par là, retenir l'eau, comme le ferait une éponge (1).

(1) Pour ce qui concerne l'absorption de l'eau par les mousses, voy. : OLTMANNS, *Strassburger Inaugural-Dissertation*, 1884.

VI. — CIRCULATION DE L'EAU DANS LES PLANTES.

74. Preuve de l'existence de la poussée des racines.

Pour démontrer que des phénomènes d'osmose et de turgescence peuvent fournir des pressions capables de faire passer le suc cellulaire à travers les membranes des cellules, de sorte qu'il parvienne, par exemple, aux vaisseaux ligneux, il nous faudra d'abord observer de plus près les phénomènes produits par la poussée des racines. On décapite des plantes robustes de *Cucurbita*, de *Helianthus*, de *Ricinus*, de *Begonia*, cultivées en pots, ou des boutures de saule bien enracinées dans des pots à fleurs, c'est-à-dire que la tige de ces plantes est coupée transversalement à quelques centimètres au-dessus du sol. Un court tuyau de caoutchouc (fig. 61, *k*) est glissé sur le tronçon de tige qui sort du sol, et relié à un tube de verre (*st*). Le tuyau de caoutchouc sera attaché sur le tronçon de tige et le tube de verre, pour empêcher l'accès de l'air, au moyen d'un cordon ou, ce qui est plus commode, d'un anneau de caoutchouc. A l'aide d'une lime à verre, on marquera un trait (*m*) sur le tube de verre, immédiatement au-dessus du caoutchouc. Lorsqu'on remplira le tube d'eau jusqu'à ce point de repère, on constatera que le niveau du liquide monte aussitôt dans le tube, si les matériaux d'étude n'ont pas subi de forte transpiration avant la préparation de l'expérience et si la terre dans laquelle ils sont enracinés contient de grandes quantités d'eau. On pourra aussi observer cet écoulement sèveux des tronçons de tiges, en faisant usage d'un autre dispositif. Sur le tronçon de tige d'une plante décapitée, on fixe un tube de verre en forme de *t* au moyen d'un court tuyau de caoutchouc. La partie verticale du tube est fermée à son extrémité supérieure au moyen d'un bouchon de liège, et la partie horizontale est mise en communication avec un tube d'écoulement dont la branche dirigée vers le bas pénètre dans une eprouvette graduée. Le liquide qui s'écoule de la plante est recueilli dans ce vase. Pour mesurer la pression exercée par la sève qui s'échappe du tronçon de tige, on se sert de l'appareil que représente la fig. 41, et, au lieu d'un tube d'écoulement, on fixe sur le tube en *t* un manomètre rempli de mercure. On verse de l'eau dans le tube en *t* et on introduit en *a*

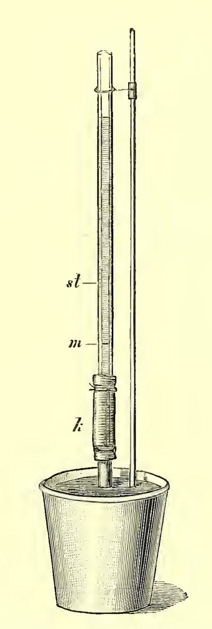


Fig. 61. — Appareil destiné aux expériences sur la poussée des racines.

un bouchon de liège traversé par un tube de verre étiré en capillaire (*b*). Le sommet du tube capillaire est fermé à la lampe de telle sorte qu'il ne reste plus d'air dans l'appareil.

En traitant des plantes de la manière qui vient d'être indiquée, on verra que chez certains matériaux d'étude, l'écoulement de sève n'a lieu que pendant quelques jours. Cependant, j'ai souvent remarqué que cet écoulement peut durer plus d'une semaine. Lorsqu'on décapite des plantes, et qu'on les examine sans autre préparation, on voit qu'il s'échappe un liquide du corps ligneux, surtout des vaisseaux.

75. L'écoulement séveux des arbres blessés, croissant à l'air libre.

En mars ou au commencement d'avril, à l'aide d'une vrille, on pratique, dans le tronc d'un bouleau, un orifice qui atteint à peu près le milieu de l'arbre. Dans mes expériences, ces orifices, mesurant 7 millimètres de diamètre, étaient percés à 40 centimètres environ de la surface du sol, hauteur où l'arbre aussi présentait à peu près 40 centimètres de circonférence. Dans ces orifices, on fixe au moyen de cire, de manière à empêcher l'accès de l'air, l'extrémité d'une branche d'un tube de verre recourbé à angle droit. L'autre branche de ce tube est introduite dans un flacon de verre placé sur le sol. Une quantité considérable de liquide s'échappe aussitôt de l'arbre. Il sera toujours très instructif de ne point perdre l'arbre de vue pendant plusieurs semaines. L'eau fournie au sol par la pluie favorise l'écoulement de la sève, si la température ne s'abaisse pas d'une façon trop considérable. Cet écoulement, souvent moindre pendant le jour que pendant la nuit, ne s'effectue parfois que pendant la nuit et non pendant le jour. Ce phénomène est dû à ce que la sève conduite de la racine dans la tige sert pendant la journée à couvrir les pertes produites par la transpiration ; mais comme l'évaporation de l'eau est en général fortement diminuée pendant la nuit, par suite d'actions atmosphériques, la sève pourra alors s'échapper, au moins en partie. La saison allant en avançant, et le bouleau s'étant recouvert de feuilles, l'écoulement de la sève se trouvera complètement arrêté, car la transpiration de l'arbre aura fortement augmenté. Si on évapore la sève du bouleau, on obtient un résidu composé de substances organiques et minérales. Il sera facile de relever la présence de ces dernières, en évaporant la sève de bouleau dans un capsule en platine et en calcinant le résidu pour détruire les combinaisons organiques. Les éléments minéraux restent. La sève du bouleau, à l'état frais, présente une réaction légèrement acide. Lorsqu'on porte la sève à l'ébullition, il se précipite un coagulum de substances albuminoïdes. En mélangeant une petite quantité de cette sève avec quelques gouttes d'acide sulfurique, et en faisant bouillir ce mélange après l'avoir étendu d'eau, on obtient un liquide qui, dans la liqueur de Fehling chaude, donne un préci-

pité d'oxyde cuivreux. La sève brute contient, entre-autres substances, de la saccharose, qui par ébullition avec l'acide sulfurique, se transforme en glucose, qui est une substance réductrice (1).

76. Influence des actions extérieures du milieu sur l'écoulement séveux des plantes décapitées.

Des plantes, robustes, cultivées en pots, de *Cucurbita*, d'*Helianthus*, de *Ricinus* ou de *Begonia*, sont décapitées, et chaque tronçon de tige est mis en communication avec un tube. La terre des pots à fleurs ne doit pas être trop humide. Les matériaux d'étude seront transportés ensuite dans un thermostat ou dans une chambre où règne une température très uniforme, après qu'on aura introduit, dans la terre du pot, un thermomètre entouré de papier d'étain, et enveloppé les tronçons de tige de cette même substance. Lorsque la terre des pots à fleurs aura pris la température du milieu ambiant, on pourra commencer les observations. On notera la quantité de sève écoulée en une heure, par exemple. Après plusieurs heures d'observation, la terre des pots sera fortement arrosée, et, lorsque les températures se seront égalisées, on mesurera de nouveau l'écoulement de sève pendant une heure. Par suite de la grande quantité d'eau que contient la terre, cet écoulement sera beaucoup plus considérable qu'auparavant.

Les mêmes matériaux d'étude pourront être employés aussi pour démontrer que la température exerce une influence sensible sur l'écoulement de la sève. Au début des expériences, on arrosera fortement la terre dans laquelle les plantes sont enracinées, pour entreprendre des observations sur l'intensité de l'écoulement de la sève chaque fois qu'il y aura équilibre de température (c'est-à-dire que la terre aura pris la température du milieu ambiant) : la température variant par intervalles dans les thermostats. A 16° C., l'écoulement de liquide pendant l'unité de temps (une heure, par exemple) sera plus grand qu'à 12° C.; et à 20° C., l'écoulement sera encore plus considérable qu'à 16. D'après mes observations, la température optimum pour l'écoulement de la sève de *Cucurbita Melopepo* est de 26° C. environ. Une température supérieure diminue ce dégagement de liquide, qui cesse complètement sous une température de 43° C.

Dans un grand nombre d'expériences de physiologie végétale — c'est précisément le cas pour celles dont nous venons de nous occuper — il est nécessaire d'exposer les matériaux d'étude pendant longtemps à des températures constantes. Cela peut être obtenu au moyen de thermostats, auxquels on donne des dispositions différentes suivant les cas. Dans mes travaux sur la poussée des racines, j'ai employé l'ap-

(1) Voy. Detmer, *Beiträge zur Theorie des Wurzeldrucks*, Iéna, 1877, p. 30.

pareil que représente la fig. 62 (1). Il se compose d'un vase en zinc, de 21 centimètres de hauteur et de 20 centimètres de diamètre, posé sur un trépied. Dans ce vase, se place un second récipient en zinc, de dimensions un peu moindres, pourvu supérieurement d'un bord de 3 centimètres de largeur. On verse dans le premier récipient une quantité d'eau telle, qu'elle remplit à peu près complètement l'espace compris entre les deux vases. Sur cet appareil, on place une cloche de verre. Le récipient externe possède de plus une annexe tubulaire destinée à recevoir le thermo-régulateur que représente la fig. 63. Cet instrument comprend d'abord un tube à réactions contenant du mercure. Le bouchon de liège qui ferme ce tube à réactions est traversé par un tube en verre, de 14 centimètres de longueur, auquel on a soudé, dans sa partie supérieure, un second tube de verre dirigé horizontalement. Dans le second de ces tubes descend un tube percé en un point, par exemple en *O*, d'une très petite ouverture latérale, et coupé obliquement à son extrémité inférieure. Le thermo-régulateur est alors mis en communication, d'une part avec la conduite de gaz, d'autre part avec la lampe à gaz placée au dessous du thermostat; ce qui permet d'employer encore cet appareil en ne faisant usage que de très petites flammes. Par la petite ouverture du régulateur, en *O*, une certaine quantité de gaz peut s'écouler, d'une façon continue, de la conduite à la lampe. Le gaz d'éclairage s'échappe, de même, du tube par l'extrémité inférieure coupée obliquement. Si, après avoir installé le régulateur, la température venait à être trop élevée, le mercure se dilaterait considérablement et viendrait fermer plus ou moins complètement l'ouverture inférieure du tube coupé obliquement. L'arrivée du gaz dans la lampe sera diminuée, et la température s'abaissera dans l'appareil. Comme il est facile de s'en rendre compte, il ne peut se produire dans l'appareil de diminution trop considérable de température. Dans beaucoup de cas, il sera très utile d'intercaler un régulateur de pression entre le thermo-régulateur et la conduite de gaz, afin de se mettre à l'abri des fluctuations qui se produisent dans la conduite. Les matériaux d'étude, les plantes cultivées en pots, par exemple, seront placés sur un support dans le récipient intérieur de zinc. Un thermomètre sera introduit dans la terre où les plantes sont enracinées; un autre, au besoin, peut traverser le bouchon qui ferme la tubulure de la cloche de verre. Il sera souvent nécessaire de donner au thermostat des dimensions plus grandes que celles qui ont été indiquées. Pour un grand nombre d'observations, il sera bon aussi de placer sur le large bord du récipient intérieur du thermostat des crochets sur lesquels on fera reposer la cloche, afin d'assurer une ventilation convenable dans l'appareil. On pourra se

(1) Voy. Detmer, *Beiträge zur Theorie des Wurzeldrucks*, in *Sammlung physiologischer Abhandlungen*, de Preyer, vol. I, cah. 8, p. 31.

procurer, chez J. F. Luhme et Cº, Berlin N. W., des thermostats, thermo-régulateurs, régulateurs de pression pour le gaz et des lampes à gaz, du Dr H. Rohrbeck, de constructions et de grandeurs variées, et de différents prix.

Dans les expériences de physiologie, lorsqu'il s'agit de conserver pendant quelques heures seulement une température à peu près cons-

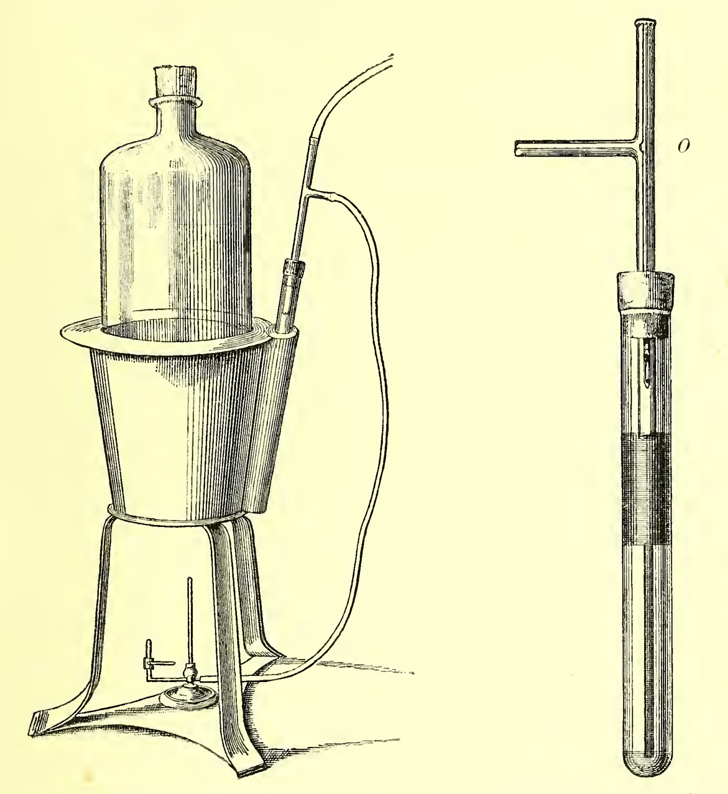


Fig. 62. — Thermostat.

Fig. 63. — Thermo-régulateur.

tante, il est commode d'employer l'appareil que nous allons décrire, et qui peut rendre aussi de grands services en l'absence d'une serre lorsqu'il faut, en hiver, surtout par les temps très froids, faire germer rapidement des graines, etc. Une grande caisse de zinc épais, à doubles parois, repose sur un thermostat placé sur un support solide. La hauteur de la caisse est de 60 centimètres environ; ses autres dimensions sont égales à celle-là L'espace compris entre les parois doubles de l'appareil peut être large de 3 à 4 centimètres. Cet espace est rempli d'eau, que l'on fait pénétrer dans l'appareil par une ouverture située à la partie supérieure de la caisse. A sa partie inférieure, se trouve un robinet qui permet de laisser écouler l'eau. Le couvercle

à double parois de la caisse est percé d'une ouverture pouvant recevoir un thermomètre. Remarquons encore que la partie antérieure de la caisse est formée par une double porte. On chauffe l'appareil au moyen d'une lampe à gaz qu'on place en dessous du thermostat.

Les thermostats doivent évidemment être placés, quand cela peut se faire, dans des endroits dont la température subit le moins de variations possible. En été, on se servira de pièces tournées au nord; en hiver, de pièces qui peuvent être chauffées au moyen de calorifères.

77. Périodicité de la poussée des racines.

On décapite des plantes de *Cucurbita Melopepo*, âgées de 2 mois environ et cultivées en pots, ou des plantes d'*Helianthus tuberosus*, âgées de 2 mois, tirées de tubercules, ou des exemplaires convenables de *Prunus Laurocerasus*. Les tronçons de tiges seront ensuite pourvus du dispositif décrit dans le § 74. On recouvrira la terre du pot d'une feuille de papier d'étain, afin de la préserver contre une perte d'eau trop considérable; on introduira un thermomètre dans cette terre, et on mettra les matériaux d'étude dans un endroit dont la température est aussi uniforme que possible, à l'occasion dans un thermostat. Si on détermine ensuite la quantité de sève que les matériaux d'étude laissent écouler pendant chaque unité de temps (par exemple toutes les heures ou toutes les deux heures) aux différents moments de la journée, on trouvera que les plantes ne donnent pas constamment la même quantité de liquide lorsque les conditions extérieures restent cependant les mêmes. Chez le *Cucurbita* et l'*Helianthus*, l'écoulement de la sève est à son maximum d'activité un peu après midi, tandis qu'il ne serait à son maximum que vers la soirée, d'après mes observations, chez le *Prunus Laurocerasus*. Pendant la nuit, l'écoulement diminue; il atteint son minimum vers les premières heures du jour, pour s'élever ensuite de nouveau. Si on a placé chaque tronçon de tige en communication avec un simple tube, après chaque observation, on devra évidemment enlever le liquide qui se trouve au-dessus du point de repère; ce qui s'effectuera aisément au moyen d'un fin tube de verre que l'on introduira dans l'autre. La hauteur, exprimée en millimètres, de la colonne d'eau qui va du point de repère au niveau du liquide peut servir de mesure dans la détermination de l'intensité de l'écoulement séveux. Des plantes relativement jeunes, aussi loin que les recherches peuvent s'étendre, ne montrent pas ce phénomène de périodicité dans l'écoulement séveux. C'est ainsi que la périodicité n'est pas encore développée chez des

(1) Les recherches sur le *Cucurbita*, l'*Helianthus* et certains autres végétaux se feront le mieux pendant l'été. Les plantes devront être cultivées au soleil, en serre froide ou à l'extérieur.

individus âgés d'un mois de *Cucurbita Melopepo* (1). Il va de soi qu'on s'appliquera surtout, dans toutes ces recherches, à maintenir la température aussi constante que possible.

78. Causes de la poussée des racines et des phénomènes voisins.

Un tube en verre de 80 millimètres environ de longueur et de 40 millimètres de diamètre (voy. fig. 64) est fermé à sa partie inférieure par une vessie de porc convenablement préparée, puis est complètement rempli d'une dissolution de saccharose, et fermé à sa partie supérieure par du parchemin végétal. Le tube est alors glissé dans une large ouverture pratiquée dans un grand bouchon de liège (*K*), de telle sorte que son extrémité inférieure plonge dans l'eau distillée que contient le vase de verre fermé par ce bouchon. La partie supérieure du tube, fermée par du papier parcheminé, est recouverte d'un tube de caoutchouc formant capuchon (*Kk*) dans lequel on a introduit un tube courbé deux fois (*Gr*). Dès que l'appareil est monté, son activité se manifeste. De l'eau pénètre par osmose dans le tube de verre fermé par des membranes à ses deux extrémités (cellule artificielle), et comme il entre une quantité d'eau plus grande que la quantité de solution sucrée qui en sort, il se produira des pressions qui, au bout de quelque temps, pourront vaincre la résistance qu'offre le papier parcheminé à la filtration. Le liquide sera alors chassé dans le tube *Gr* et pourra être recueilli dans le vase *F*. Les causes qui déterminent dans les plantes la production de la poussée des racines et les phénomènes voisins, sont évidemment beaucoup plus complexes que celles dont nous venons de nous occuper. Il faut remarquer, notamment, que le protoplasme (surtout sa couche membraneuse) joue un rôle important dans les cellules végétales, lorsque des phénomènes osmotiques déterminent la production de pressions dans les plantes. Mais l'expérience que nous venons de rapporter possède néanmoins un intérêt considérable pour la physiologie végétale. Dans

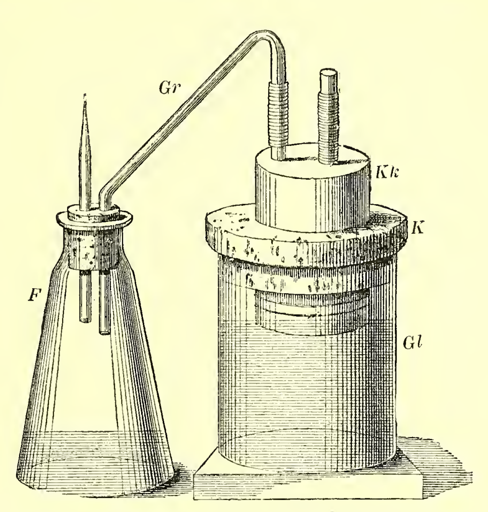


Fig. 64. — Appareil destiné à faire comprendre les phénomènes qui déterminent la poussée des racines.

(1) Pour la bibliographie, voy. Detmer, *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, 1883, p. 122.

les cellules du parenchyme des racines, les propriétés osmotiques du contenu cellulaire déterminent donc la production de pressions et les cellules, fortement turgescentes, laissent finalement échapper une partie de leur contenu, qui pénètre dans les éléments ligneux où il est poussé en avant.

79. Autres expériences sur le dégagement des plantes d'eau liquide, réductible en gouttelettes.

Lorsque les phénomènes osmotiques produisent des pressions énergiques dans les cellules végétales, et que ces pressions parviennent finalement à vaincre la résistance qu'offrent l'hyaloplasme et la membrane cellulaire à la filtration, une certaine quantité de liquide est chassée des cellules. Les expériences sur l'écoulement de liquide, des plantes décapitées, sous l'action de la pression qui existe dans les racines, nous ont déjà familiarisé avec des phénomènes fournis par des pressions produites par l'osmose. Mais nous devons nous occuper aussi d'une série d'autres phénomènes.

De jeunes exemplaires de maïs ou de *Tropaeolum* cultivés en pots seront placés dans un thermostat (voy. fig. 62), et recouverts d'une cloche de verre. La terre des pots sera parfaitement mouillée, et la température, maintenue constante entre 20-25° C. Dans ces conditions, la transpiration des matériaux d'étude sera à peu près nulle. Par suite de la poussée des racines, toutes les cavités à l'intérieur des plantes se rempliront d'eau, et ce liquide pourra même s'échapper à l'extérieur. On observe, en effet, au bout d' 1 heure 1/2 à 2 heures, que des gouttelettes d'eau apparaissent au sommet des feuilles de *Zea* ainsi que sur le bord des feuilles de *Tropaeolum*, pour se détacher lorsqu'elles ont atteint une certaine grosseur et être remplacées par de nouvelles. Chez le *Zea*, l'eau s'échappe des crevasses de l'épiderme; chez le *Tropaeolum*, des fentes destinées à recevoir l'eau.

Il est aisé de comprendre que les forces, comme celles qui sont produites, par exemple, par la poussée des racines, jouent un rôle important dans ce dégagement de gouttelettes d'eau des feuilles. On fixe, sur la courte branche d'un tube recourbé rempli d'eau, un rameau de *Vitis*, de *Tropaeolum* ou d'*Impatiens* (voy. fig. 65), La surface de section est plongée dans l'eau. Si on place alors cet appareil dans un grand cylindre en verre, pour diminuer autant que possible la transpiration de la plante sur laquelle on expérimente, après un temps plus ou moins long des gouttelettes d'eau s'échappent des tissus foliaires. En opérant de cette manière sur des rameaux d'*Impatiens*, je voyais très bien l'apparition des gouttelettes. Une pression mercurielle de 35 centimètres amenait en quelques minutes des gouttelettes d'eau aux dents des feuilles (1).

(1) Voy. MOLL, *Botan. Zeitung*, 1880.

D'après les travaux de Pitra, il serait facile d'observer le dégagement d'une quantité importante de liquide de la surface de section d'un rameau feuillé, à peu près complètement plongé dans l'eau. J'ai répété un grand nombre d'expériences de Pitra, mais toujours avec un résultat négatif. Mes expériences ne suffisent évidemment pas pour critiquer celles de l'auteur qui vient d'être cité, je ne m'en occuperai d'ailleurs pas davantage. Cependant, il me sera facile de démontrer, au contraire, en employant des morceaux de tiges de *Zea* ou de *Sorghum vulgare* que des pressions produites par osmose, non seulement dans les racines, mais encore dans les cellules des tiges, peuvent donner un dégagement de liquide. Des morceaux de tiges de 10 centimètres environ seront découpés, dans des robustes tiges de maïs ou dans des tiges de *Sorghum* au début de leur floraison, de telle sorte que leur surface de section supérieure se trouve quelques millimètres au-dessous d'un nœud. On plonge ces morceaux de tiges dans l'eau, de manière que leur surface de section supérieure émerge du liquide, et on les recouvre d'une cloche de verre. La sève s'échappera aussitôt de la surface de section. Si on dessèche cette surface au moyen de papier à filtrer, elle ne tardera pas à se montrer de nouveau humide.

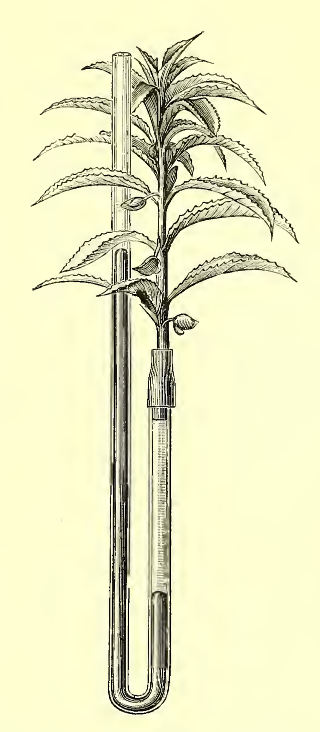


Fig. 65. — Appareil servant à montrer l'influence de la pression sur le dégagement d'eau des organes végétaux.

L'écoulement de liquide des organes végétaux peut être provoqué par d'autres causes encore que les pressions dues à l'osmose. C'est le cas, par exemple, pour beaucoup de nectaires (1) et nous choisirons pour nos expériences ceux de *Fritillaria imperialis*. Les nectaires, relativement grands, se rencontrent facilement sous forme de godet à la base des pièces du périgone de cette plante. Elles contiennent un jus sucré renfermant du glucose, comme on peut aisément s'en assurer, en lavant la base de quelques feuilles du périgone avec un peu d'eau et en portant le liquide obtenu dans la liqueur de Fehling bouillante. Nous lavons ensuite très soigneusement et à plusieurs reprises avec de l'eau pure les nectaires de plusieurs pièces du périgone de *Fritillaria*, puis nous les séchons avec un linge mou et nous déposons ces pièces florales sous une cloche de verre. Dans les nectaires de quelques pièces du

(1) Voy. Wilson, in *Untersuchungen aus d. Botan. Institut zu Tübingen*, vol. I, cah. 1.

périgone nous porterons alors un petit grain de sucre mouillé; les autres n'en recevront point. Au bout de quelques heures, les premiers contiendront de nouveau un liquide sucré, tandis que les derniers resteront secs. Le sucre attire par osmose l'eau des cellules des nectaires, sans l'intervention de pressions. Le travail effectué par le sucre dans cette expérience est produit, selon toute apparence, dans les conditions normales, par des corps qui provoquent l'osmose et qui proviennent, par des métamorphoses, de la substance de la membrane des cellules épidermiques extérieures des nectaires.

Lorsqu'un tronc d'arbre abattu, contenant beaucoup d'eau, est soumis à l'action des rayons du soleil, il s'échappe fréquemment un liquide de la surface de section. Ce phénomène est dû à la dilatation de l'air à l'intérieur des éléments ligneux, faisant sortir l'eau qui y est contenue en même temps. Les expériences qui vont suivre nous fourniront quelques données précises à cet égard. Des morceaux de branches de saule, d'orme, de frêne, de noisetier ou de *Pavia rubra* (j'ai surtout expérimenté sur cette dernière plante), ayant 20-50 centimètres de longueur et 2-5 centimètres d'épaisseur, sont coupés en hiver par un temps froid, mais humide. On augmente encore leur contenu d'eau en les plaçant pendant 24 heures dans l'eau à 2° C. environ, après avoir rendu très lisses les surfaces de section à leurs extrémités. Les morceaux de branches seront ensuite plongés dans l'eau à 25-30° C. contenue dans un cylindre en verre, de façon que leur extrémité supérieure seule émerge légèrement du liquide. Sur la surface lisse de section s'accumule bientôt une assez grande quantité d'eau. J'ai observé un dégagement semblable de liquide, provoqué par la dilatation de l'air dans les éléments ligneux, lorsque, en hiver, je plongeais dans l'eau à 24° C. des morceaux de branche d'*Abies pectinata* ayant 15 centimètres de longueur et 2 centimètres d'épaisseur. Lorsqu'ils étaient ensuite placés dans l'eau à 5° C., l'eau qui s'était répandue sur la surface de section supérieure pénétrait de nouveau dans l'organe, car le refroidissement déterminait une contraction de l'air qu'il renfermait (1).

80. La structure des organes végétaux et la transpiration.

Tous les tissus végétaux ne sont point perméables à l'eau liquide réductible en gouttelettes ou à la vapeur d'eau. Il y a des tissus qui ne se laissent que très difficilement traverser par l'eau, et, parmi ceux-ci, on trouve en première ligne le tissu subéreux. Ce fait est très important au point de vue biologique. Un grand nombre d'organes végétaux, les tubercules de pommes de terre, par exemple, contenant beaucoup d'eau et ayant à traverser une très longue période de repos, sont entourés, en effet, par une couche plus ou moins épaisse de liège.

(1) Voy. SACHS, *Botan. Zeitung*, 1860.

Il suffira d'effectuer l'expérience qui va suivre pour comprendre le rôle de ce tissu, lorsqu'il s'agit de conserver une grande quantité d'eau dans le parenchyme des tubercules (1). On se procure deux tubercules de pommes de terre autant que possible de même grandeur. Un des tubercules est débarrassé de sa pelure, afin d'enlever le tissu subéreux; l'autre reste pourvu de son enveloppe. On détermine alors le poids de chacun de ces tubercules, puis on les laisse l'un à côté de l'autre. De nouvelles pesées après 3, 6 et 24 heures montrent que le tubercule épluché perd beaucoup plus d'eau que l'autre. Les petites quantités d'humidité perdues par ce dernier s'échappent surtout par les lenticelles et les fines crevasses de son enveloppe.

On choisit deux pommes ayant autant que possible les mêmes dimensions. La pelure, enlevée à l'une, est conservée à l'autre. En pesant de temps en temps, toutes les 24 heures, par exemple, les matériaux d'étude, on remarque que la pomme débarrassée de sa pelure perd à l'air beaucoup plus d'eau que l'autre. Comme le tissu subéreux, l'épiderme cuticularisé est, par conséquent aussi, très difficilement perméable à l'eau (2).

La petite perte d'eau que subissent les pommes de terre et les pommes pourvues de leur pelure s'effectue grâce à la présence des lenticelles, et on peut encore démontrer directement, par l'expérience qui va suivre, que ces organes, en effet, ne sont pas sans influence sur l'intensité de la transpiration. Deux morceaux de rameaux d'*Æsculus* ou d'*Ampelopsis*, aussi semblables que possible, pesant 3 gr. environ, sont recouverts de cire à cacheter à leurs deux extrémités, et abandonnés pendant 24 heures après avoir été pesés. On détermine alors de nouveau le poids de ces matériaux d'étude : ce qui permet d'évaluer exactement la perte qu'ils ont subie par leur transpiration. Sur un des rameaux, on enduit les lenticelles de cire molle, et sur l'autre, de grandes places péridermiques correspondantes; on détermine immédiatement le poids de ces organes végétaux et on les pèse de nouveau après 24 heures de transpiration. Le rameau dont les lenticelles ont été enduites de cire perd absolument ou proportionnellement moins d'eau que l'objet servant de témoin.

L'épiderme des feuilles, on l'a déjà constaté dans le § 69, est très généralement pourvu d'un revêtement cireux qui peut affecter, comme on le sait, différentes formes. Ces revêtements cireux ne diminuent pas la transpiration d'une façon négligeable, comme le montre l'expérience que nous allons effectuer. Les deux feuilles opposées d'un même verticille d'*Eucalyptus globulus* constitueront des matériaux d'étude convenables. Une des feuilles sera pesée directement, l'autre ne le sera que lorsqu'on aura enlevé le revêtement cireux à l'aide d'un linge

(1) Voy. Detmer, *Journal f. Landwirthschaft*, 1879, p. 119.
(2) Voy. Just, in *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* de Cohn, 1875, cahier, 3.

mou. Des pesées, effectuées après 6, 12 ou 24 heures, montreront que la première feuille a moins perdu par sa transpiration que l'autre (1).

Les expériences précédentes montrent, en réalité, d'une façon indubitable que, pendant la transpiration des plantes, il n'y a tout au plus qu'une minime partie de l'eau vaporisée qui puisse traverser l'épiderme cuticularisé, surtout lorsque la cuticule est fortement imprégnée de substances cireuses. Toutefois, la cuticule n'est cependant pas complètement imperméable à l'eau, comme nous allons le montrer expérimentalement.

Nous placerons une feuille cueillie et intacte de *Begonia*, dont la surface est dépourvue de stomates, dans un cristallisoir en verre à côté d'un porte-objet. Puis nous mélangerons une grande quantité de sel marin avec un peu d'eau, de manière que le sel marin soit légèrement mouillé. On répandra ensuite de petites quantités de sel sur la face supérieure de la feuille et sur le porte-objet. Enfin, nous recouvrirons le cristallisoir d'une lame de verre. Le sel marin se dissoudra immédiatement sur la feuille; il attirera l'eau des tissus foliaires qui ne peut parvenir à l'extérieur qu'en traversant la cuticule. Le sel marin sur le porte-objet attirera tout au plus une petite quantité de vapeur d'eau de l'air atmosphérique et restera relativement sec.

Nous préparerons une substance très facilement fusible, en mélangeant de la cire avec une huile grasse. On cueillera ensuite deux petites feuilles de *Mahonia* aussi semblables que possible. Une des feuilles sera enduite de ce mélange de cire et d'huile (à l'aide d'un pinceau) sur sa face supérieure seulement; l'autre, sur sa face inférieure. Dans ces deux matériaux d'étude, on bouchera la surface de section des pétioles. Après que cet enduit cireux se sera refroidi et solidifié, nous déterminerons le poids des feuilles, nous les laisserons exposées à l'air, la face libre tournée vers le haut, et nous les pèserons de nouveau au bout d'un certain temps. La feuille à face inférieure libre laissera évaporer plus d'eau que l'autre, car les stomates ne font pas défaut sur la face inférieure de la feuille de *Mahonia*. La face supérieure de la feuille de *Mahonia*, dépourvue de stomates, laissera sortir une quantité d'eau relativement petite, il est vrai, mais cette eau aura dû passer à travers la cuticule. Il y a encore d'autres plantes dont les feuilles ne possèdent de stomates que sur leur face inférieure (*Ilex*, *Nerium*, *Begonia*, *Ficus*, etc.), et qui peuvent être employées pour les expériences du genre de celles que nous avons effectuées sur les feuilles de *Mahonia*.

Lorsqu'on s'occupe des relations qui existent entre la structure des organes végétaux, d'une part, et leur transpiration, d'autre part, on ne peut omettre de mentionner que beaucoup de feuilles, et d'ailleurs d'autres organes encore, développent des tissus

(1) Voy. G. Haberlandt, *Physiologische Pflanzenanatomie*, 1884, p. 69.

servant à emmagasiner de l'eau. C'est ce qui a lieu surtout chez les plantes qui vivent dans des endroits relativement secs, et qui, par là même, ont souvent à supporter une longue période de grande sécheresse. On pourrait citer, notamment, un grand nombre de cactées, les euphorbes cactiformes, de nombreuses crassulacées, les *Aloe* et les *Peperomia*. Nous pratiquons, par exemple, une section transversale dans une feuille de *Aloe soccotrina*. Sous l'épiderme, pourvu d'une très forte cuticule, se trouve le tissu assimilateur vert, dont les cellules contiennent des grains de chlorophylle relativement grands. Le milieu de la feuille est occupé par un tissu, appelé tissu aquifère, dont les grandes cellules, très riches en eau, contiennent des substances gélatineuses en quantité considérable. Les faisceaux libéro-ligneux se trouvent à la limite entre le tissu aquifère et le tissu assimilateur, qui enveloppe circulairement le premier. Quand les espèces du genre *Aloe*, pendant les temps secs, ne sont pas en état de pouvoir retirer du sol à l'aide de leurs racines de grandes quantités d'eau, l'eau accumulée dans le tissu aquifère sera utilisée, et les plantes ne souffriront pas sensiblement de la sécheresse, alors que d'autres végétaux auraient été tués. La feuille de *Peperomia trichocarpa* possède, de même, un tissu aquifère développé, comme s'en aperçoit immédiatement en examinant des sections transversales de cette feuille. Sous l'épiderme supérieur de cette feuille, on rencontre un tissu succulent dépourvu de chlorophylle, dont les cellules vont en augmentant de volume de l'épiderme vers le milieu de la feuille. Le parenchyme assimilateur ne présente qu'une minime épaisseur sur une section transversale. Il est étalé entre le tissu aquifère de la face supérieure de la feuille, et une couche épaisse de parenchyme de la face inférieure de la feuille dont les cellules renferment, il est vrai, une petite quantité de chlorophylle, mais qui, à cause de leur important contenu de sève, doivent être considérées aussi comme possédant une grande importance pour l'accumulation de l'eau.

81. Autres expériences sur la transpiration.

Il est fort remarquable que la quantité d'eau qui s'évapore pendant l'unité de temps d'une surface foliaire déterminée, est beaucoup moins grande que celle qui s'échappe pendant le même temps d'une couche d'eau libre possédant la même étendue. Pour démontrer ce fait, j'ai effectué les expériences qui vont suivre, au moyen de l'appareil que représente la fig. 66. Un vase en verre de 11 centimètres de hauteur et de 8 centimètres de diamètre est rempli de bonne terre de jardin dans laquelle on a semé un haricot. Lorsque la jeune plante aura complètement étalé ses feuilles primordiales, on placera une lame de verre découpée en deux sur le bord rodé et graissé du vase. La lame de verre est percée de trois ouvertures. Celle du centre sert à recevoir la tige de la plante.

Au besoin, on achèvera de la boucher avec de l'ouate. Une des ouvertures latérales est destinée au thermomètre *T*, et l'autre est fermée au moyen d'un bouchon de liège. On déterminera alors le poids de tout l'appareil, ainsi que celui d'un cristallisoir rempli d'eau. Ce dernier, dans mes expériences, avait un diamètre de 5 centimètres. Au bout de 24 heures, on pèsera de nouveau. La plante abandonne à l'air 4,6 gr. d'eau; la couche d'eau libre, 2,23 gr. La surface de la couche d'eau était évaluée à 19,6 centimètres carrés. On obtient la surface des feuilles de haricots par le procédé qui va être indiqué. Du papier très homogène sera trempé dans une dissolution de bichromate de potassium. Lorsque le papier sera sec, on en pèsera un morceau d'une surface donnée. On coupera alors les deux feuilles primordiales de la plante, on les placera sur un morceau, suffisamment grand, de papier trempé dans le bichromate de potassium, et on exposera le tout pendant quelque temps à l'action directe du soleil. Le contour des feuilles sera bientôt nettement marqué sur le papier, car la partie non couverte deviendra beaucoup plus brune. On découpera soigneusement les empreintes de feuilles et on déterminera le poids du papier employé. Comme on connaît le poids du papier sous une surface déterminée, il sera aisé de calculer la surface des feuilles. J'ai trouvé que la surface totale des deux feuilles primordiales de ma plante était de 230,8 centimètres carrés. Cette surface foliaire n'évaporait certainement pas une quantité supérieure à 4,6 gr. d'eau, car je n'ai pas tenu compte de la surface des pétioles, de la tige et de la gemmule, bien que ces organes abandonnent aussi à l'air de petites quantités d'eau. Les 19,6 centimètres carrés d'eau libre perdaient en 24 heures 2,23 gr. d'eau, c'est-à-dire 11,3 gr. par 100 centimètres carrés, tandis que les 230,8 centimètres carrés de surface foliaire n'avaient perdu pendant le même temps, que 4,6 gr. d'eau, c'est-à-dire, 1,99 gr. par 100 centimètres carrés.

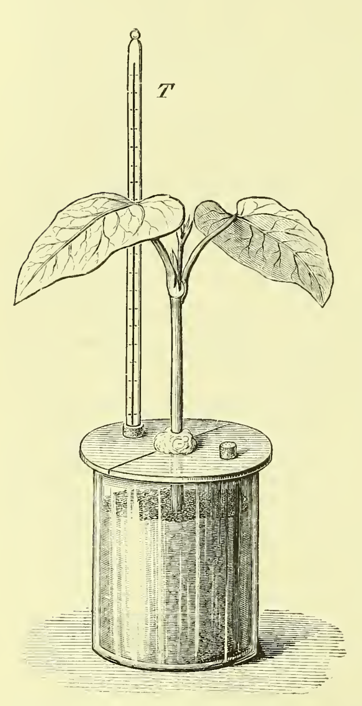


Fig. 66. — Appareil destiné aux recherches sur la transpiration.

Dans le § 80, on a déjà montré que les régions cuticularisées des épidermes foliaires étaient d'une certaine importance pour le phénomène de la transpiration, car elles ne sont point, comme nous l'avons vu, tout à fait imperméables à la vapeur d'eau. Mais, malgré cela, il est certain que ce sont les stomates qui possèdent la plus grande

importance pour la transpiration. On a pu constater, notamment, une certaine relation entre l'énergie de la transpiration d'un organe végétal et le nombre des stomates. Il n'existe cependant point de proportionnalité directe entre le nombre des stomates sur une surface foliaire déterminée et l'énergie de la transpiration ; ce qui ne doit pas nous étonner, car la vapeur d'eau qui s'échappe par les stomates prend naissance dans les espaces intercellulaires; d'où il résulte que l'on ne doit pas seulement prendre les stomates en considération, mais encore la forme, la grandeur et le nombre des espaces intercellulaires.

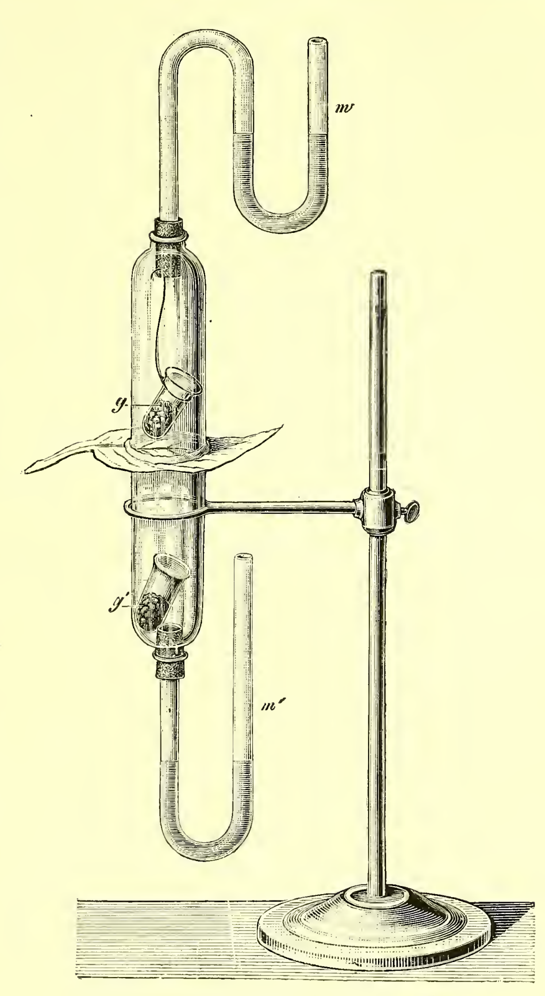


Fig. 67. — Appareil destiné aux recherches sur la transpiration.

Garreau (1) a déterminé l'énergie de la transpiration de la face supérieure et de la face inférieure d'un grand nombre de feuilles, et calculé en même temps le nombre de stomates de ces faces. Il a obtenu, entre autres, les résultats suivants :

		Rapport du nombre des stomates.	Nombre de gr. d'eau transpirée en 24 heures.
Atropa belladona...	face supérieure.	10	0,48
	face inférieure..	55	0,60
Nicotiana rustica...	face supérieure.	15	0,57
	face inférieure..	20	0,80
Syringa vulgaris...	face supérieure.	100	0,30
	face inférieure..	150	0,60
Tilia Europæa.....	face supérieure.	0	0,20
	face inférieure..	60	0,49

(1) Voy. Garreau, *Annales des sciences naturelles*, 1850.

Pour répéter les expériences de Garreau, on construit l'appareil que représente la fig. 67. Deux cloches semblables de verre, dont les dimensions varient suivant les cas (de 40 ou 80 millimètres environ de diamètre et de 100 millimètres de hauteur) sont fixées, au moyen d'un mastic qui empêche l'accès de l'air, sur la face supérieure et sur la face inférieure d'une même feuille. On se servira, comme mastic, d'un mélange, obtenu par fusion, de 2 parties d'huile d'olives, 1 partie de suif de mouton et 1 partie de cire. J'ai pu m'assurer qu'il était de bon service. Si la température de la pièce où l'appareil se trouve est relativement élevée (supérieure à 20° C., par exemple), au lieu d'employer 2 parties d'huile d'olives, on en prendra une quantité moindre. Les cloches de verre doivent être tubulées, afin de pouvoir recevoir deux manomètres m et m' contenant de l'huile. Enfin, sous chaque cloche de verre, se trouve un petit vase rempli de chlorure de calcium (g et g'). L'augmentation de poids de ces vases indiquera l'énergie de la transpiration. Il est clair qu'on n'effectuera pas l'expérience sur des feuilles cueillies, mais bien sur des feuilles encore attachées à la plante restée intacte.

82. Influence des conditions extérieures du milieu sur la transpiration des plantes.

Les appareils que l'on a employés dans les nombreuses recherches concernant l'influence des conditions extérieures du milieu sur la transpiration des plantes, sont de constructions très variées. Nous emploierons ici deux appareils, dont je puis, par expérience personnelle, recommander l'usage. L'un d'eux a déjà été décrit dans le § 81; il est représenté par la figure 66. Il y a été dit que les matériaux d'étude pouvaient être cultivés dans les vases de verre mêmes, fermés au moyen d'un couvercle en verre. On peut cependant aussi les laisser croître dans des pots à fleurs, et introduire ceux-ci dans des vases de verre, suffisamment spacieux, pouvant être fermés. Lorsqu'on expérimente sur des plantes relativement fortes (par exemple des *Helianthus* et des *Nicotiana*), et qu'on est obligé d'employer de grands pots à fleurs afin qu'elles deviennent robustes, on place ces pots dans des récipients en zinc qui peuvent être fermés au moyen d'un couvercle divisé en deux parties. Ce couvercle sera troué en deux points, pour laisser passer la tige de la plante et pour recevoir un thermomètre. Pour empêcher l'accès de l'air, on peut enduire de mastic les parties du couvercle qui se joignent (2 parties de cire et 1 partie de colophane fondues ensemble). Les recherches sur la transpiration de plantes relativement grandes sont déjà instructives par cela même, qu'elles montrent que des quantités d'eau très considérables peuvent se perdre dans l'atmosphère en peu de temps (en 24 heures, par exemple).

Le second appareil pour les expériences sur l'évaporation d'eau

des végétaux, que représente la figure 68, est d'un emploi très commode, surtout pour des démonstrations à effectuer pendant le cours. Un tube de verre courbé en U, assez large, est rempli d'eau (*G*). L'ouverture d'une des branches est fermée au moyen d'un bouchon percé d'un trou dans lequel on a introduit la partie inférieure de la pousse *Sp*, dont on veut déterminer l'énergie de la transpiration. L'ouverture de l'autre branche est fermée au moyen d'un bouchon percé de deux orifices. L'un de ces orifices sert à recevoir le thermomètre *T*, l'autre, une branche du tube de verre recourbé *G*', rempli d'eau. Après avoir placé le tout dans un large vase de verre et l'avoir porté sur une balance, nous pourrons déterminer la perte de poids que la transpiration fait subir à la pousse. Mais nous pourrons aussi observer directement la diminution de volume que l'eau subit par transpiration, par un abaissement de l'eau que provoque l'évaporation dans le tube de verre *G*'.

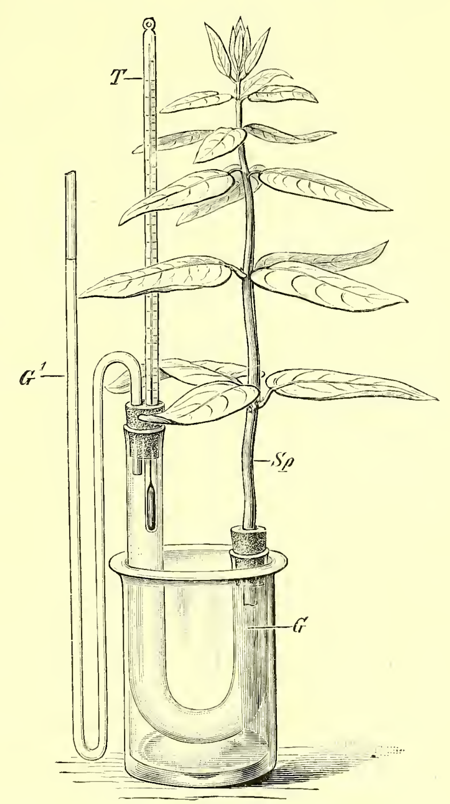


Fig. 68. — Appareil destiné aux recherches sur la transpiration.

Pour démontrer que les plantes transpirent beaucoup moins dans l'air humide que dans l'air sec, nous placerons d'abord notre appareil pendant une demi-heure sous une cloche de verre dont la paroi intérieure a été arrosée d'eau, puis les matériaux d'étude seront exposés pendant une demi-heure à l'air libre. Ces expériences ne se feront d'ailleurs pas à l'extérieur, mais dans une chambre, et l'on veillera à ce que les matériaux d'étude, pendant l'expérience, restent toujours exposés à la même température et au même éclairage.

Une plante perd beaucoup plus de vapeur d'eau sous une haute température que sous une basse. La température et l'état hygrométrique agissent d'ordinaire de concert. Nous ne nous étendrons pas davantage sur ces différents phénomènes, car ils se comprennent d'eux-mêmes.

Mais il sera intéressant, au contraire, de montrer que la lumière augmente l'énergie de la transpiration. J'ai employé, pour mes recherches, l'appareil que la figure 66 représente, et j'ai surtout expéri-

menté sur les *Cucurbita*. On effectue les observations dans une pièce qui ne reçoit que de la lumière diffuse pendant le temps que dure l'expérience, et qui pourra être rendue obscure sans difficulté ; ce qui ne signifie absolument pas qu'elle doive être alors complètement privée de lumière. Le mieux est de placer l'appareil sur une balance devant une fenêtre. On l'éclaire pendant une demi-heure, puis on le plonge dans l'obscurité, on l'éclaire de nouveau au bout d'une demi-heure, etc. Pendant chacune des phases de l'expérience, la température de la terre et de l'air ne doit pas changer; de même, l'état hygrométrique ne doit pas varier. Comme psychromètre, il suffira d'employer un simple support avec deux thermomètres ; l'un sera conservé sec, l'autre aura sa boule entourée d'un linge humide. On trouvera dans mon travail intitulé : *Beiträge zur Theorie des Wurzeldrucks*, Iéna, 1877, p. 77, les résultats détaillés de mes recherches. La cause de l'augmentation de la transpiration sous l'influence de la lumière doit être cherchée, d'une part, dans l'action calorifique des radiations lumineuses qui pénètrent dans la plante et, dans certains cas, cette élévation de température sera encore produite, d'autre part, par l'élargissement des fentes stomatiques sous l'action de la lumière.

Lorsqu'on examine, à l'aide de notre appareil, l'intensité de la transpiration chez les *Cucurbita* ou d'autres plantes, et qu'on les laisse d'abord reposer sur une balance pendant une demi-heure pour déterminer la perte due à leur transpiration, puis qu'on secoue alors vigoureusement les organes végétaux pendant quelques secondes, on voit immédiatement qu'il s'échappe des matériaux d'étude, pendant ce temps, une quantité de vapeur d'eau considérablement plus grande. Des secousses subites augmentent beaucoup la transpiration des végétaux; j'ai eu souvent l'occasion de m'assurer de l'exactitude de ce fait (1).

83. Le bois comme tissu conducteur de l'eau, et l'influence de la transpiration sur la circulation de l'eau dans la plante.

Nous pratiquons une découpure annulaire à la base d'une branche d'arbre ou d'arbuste, abondamment fournie de feuilles (j'ai expérimenté sur le *Pavia rubra*), sans la détacher de la plante-mère, et nous enlevons à la périphérie de la branche un anneau d'écorce de 5 centimètres de largeur, atteignant le bois.

La branche restera longtemps fraîche, bien que les feuilles transpirent énergiquement, parce que le transport de l'eau n'est pas inter-

(1) Bibliographie : Unger, *Anatomie u. Physiologie d. Pflanzen*, 1855; Sachs, *Handbuch der Experimentalphysiologie d. Pflanzen*, 1865; Baranetzky, *Botan. Zeitung*, 1872; Wiesner, *Sitzungsber. d. Akadem. d. Wiss. in Wien*, 1876, cahier d'octobre; Detmer, *Beiträge zur theorie d. Wurzeldrucks*, Iéna, 1877, p. 47; Kohl, *Transpiration d. Pflanzen*, Brunswick, 1886.

rompu par l'enlèvement de l'anneau. On voit par là que l'écorce peut être considérée comme un tissu qui ne possède pas la moindre importance pour la circulation de l'eau dans la tige : c'est la portion ligneuse des faisceaux libéro-ligneux qui sert au transport de l'eau. Au milieu des tiges ligneuses, la moelle, desséchée ou déjà en partie détruite, ne joue naturellement aucun rôle dans la circulation de l'eau dans la plante.

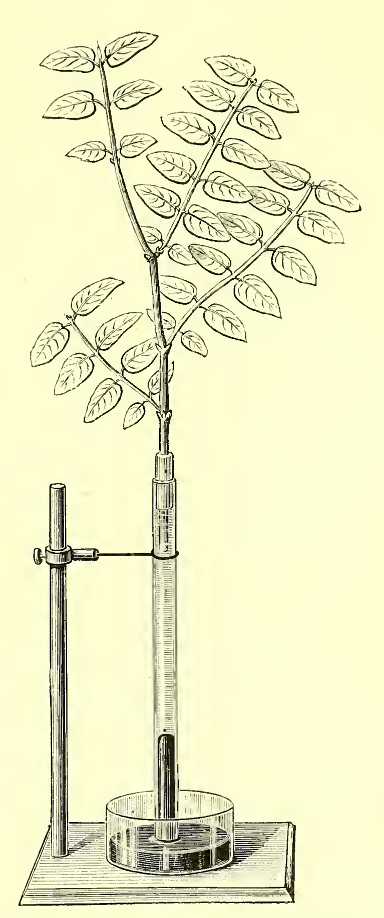


Fig. 69. — Appareil destiné à montrer l'aspiration exercée par la transpiration.

Nous coupons une pousse d'*Impatiens noli tangere* ou d'*Impatiens parviflora*, et nous l'introduisons par sa surface de section dans une solution aqueuse de vert de méthyle. Les tiges de ces matériaux d'étude étant fortement transparentes, on pourra très convenablement observer les phénomènes dont nous avons à nous occuper. Lors d'une expérience effectuée sur l'*Impatiens parviflora*, la solution de substance colorante, au bout d'un quart d'heure, s'était déjà élevée de quelques centimètres dans la tige d'une pousse dont la transpiration était assez énergique. L'examen au microscope de sections transversales de la tige montrait que, seule, la portion ligneuse des faisceaux libéro-ligneux, disposés en cercle, était colorée. Cette expérience ne prouve cependant pas d'une manière indubitable que le courant d'eau produit par la transpiration circule dans le bois de la plante. Les membranes des éléments ligneux jouissent de la propriété d'attirer énergiquement les matières colorantes, et on pourrait supposer *à priori* que ces membranes ont enlevé la matière colorante aux autres tissus. Mais, si on tient compte des résultats de l'expérience que nous avons effectuée sur la circulation de l'eau dans une pousse dans laquelle on a pratiqué une découpure annulaire, l'expérience faite sur l'*Impatiens* peut offrir un certain intérêt, surtout pour les démonstrations.

Nous coupons ensuite deux pousses d'*Impatiens* aussi semblables que possible et nous les plongeons par leur base dans l'eau. Ces deux pousses seront d'abord abandonnées pendant quelques heures sous

une grande cloche de verre dont la paroi intérieure a été arrosée d'eau. Puis nous introduirons leur surface de section dans une dissolution de vert de méthyle. Une des pousses sera placée alors dans des conditions telles qu'elle transpire énergiquement. On préservera autant que possible l'autre de toute perte d'eau, en la laissant sous la cloche de verre. Dans cette dernière pousse, la solution de matière colorante ne s'élèvera que légèrement, tandis qu'elle montera en peu de temps jusqu'à une hauteur considérable dans les faisceaux libéro-ligneux de l'organe qui transpire.

Il sera facile aussi de montrer l'aspiration exercée par la transpiration. Nous emploierons pour cela l'appareil que représente la figure 69. Nous fixerons hermétiquement, au moyen d'un tuyau de caoutchouc, une pousse feuillée à l'extrémité supérieure d'un tube de verre placé verticalement que nous remplirons d'eau et dont nous plongerons la partie inférieure dans du mercure. Le mercure pénétrera dans le tube de verre proportionnellement à la quantité d'eau utilisée pour la transpiration. J'ai trouvé que le mercure pouvait monter de quelques centimètres en peu d'heures, lorsque la transpiration de la plante employée était assez énergique (en faisant usage, par exemple, de pousses de *Lonicera tatarica*).

Au printemps (à la fin de mars ou au commencement d'avril), on pratique, un orifice dans le tronc d'un bouleau, à peu de distance du sol, et on fixe hermétiquement dans l'orifice, au moyen d'un tuyau de caoutchouc ou à l'aide de cire à cacheter, une des branches d'un tube en verre courbé à angle droit. On verra qu'une quantité considérable de liquide est chassée de l'arbre par la poussée des racines, surtout pendant la nuit. Si on répète cette expérience en été, par exemple en juin, il ne sort plus une goutte de sève de l'arbre, et celui-ci pourra même attirer de l'eau, comme il sera facile de le montrer en plongeant dans l'eau l'extrémité ouverte du tube courbé à angle droit. Ce phénomène sera dû à l'aspiration exercée par la transpiration.

Lorsqu'il n'est pas fourni une très grande quantité de liquide à une plante qui transpire et dont les éléments ligneux renfermaient d'abord une forte quantité d'eau — ce sera surtout le cas en été — l'eau disparaît peu à peu de la cavité des vaisseaux ligneux et des trachéides. Comme on l'a vu dans le § 65, l'air ne passe que difficilement du système intercellulaire aérifère des plantes dans les cellules, et, de même, il n'y aura qu'une quantité peu importante d'air dissous dans l'eau contenue dans les plantes, qui pourra être abandonnée dans certaines conditions à la masse environnante. En été, lorsqu'il se produit une forte transpiration dans les plantes, il n'y a point d'eau à l'intérieur des éléments ligneux, mais une atmosphère raréfiée contenant beaucoup de vapeur d'eau, comme on l'a déjà indiqué dans le § 65.

Un morceau de bois, enlevé à un arbre qui transpire, jeté dans l'eau,

nage à la surface de celle-ci. Si la lumière des éléments ligneux était complètement remplie d'eau, le bois se serait enfoncé, car le poids spécifique de la substance ligneuse est supérieur à celui de l'eau. Un morceau de bois frais jeté dans l'eau s'enfonce d'ailleurs de plus en plus profondément dans le liquide, parce qu'il subit en même temps une augmentation de poids : phénomène qui ne peut résulter que de la pénétration de l'eau.

L'expérience qui va suivre montre également que si la lumière des éléments ligneux des plantes peut être, dans certains cas, complètement remplie d'eau, il n'en est pas toujours ainsi (1). Deux exemplaires robustes de *Cucurbita* ou de *Begonia* seront décapités, de la façon indiquée dans le § 74, et munis d'un tube. L'un d'eux aura, au préalable, fortement transpiré pendant une journée, tandis que l'autre aura été préservé, en le recouvrant d'une cloche, d'une perte d'eau considérable. Cette dernière plante dégage immédiatement de la sève, qui, sous la poussée des racines, s'élève dans le tube dont elle est surmontée. L'autre plante, au lieu de laisser écouler de la sève, aspire, même d'une façon assez avide, l'eau que l'on verse dans le tube. Ce n'est que petit à petit que l'écoulement séveux pourra se produire.

Alors même qu'il ne sort pas immédiatement de la sève du tronçon de tige d'une plante décapitée, il n'est nullement prouvé qu'il ne s'est point développé de pressions dans ses racines, immédiatement après l'opération. Dans tous les cas, l'action exercée par la poussée des racines est alors insignifiante, de sorte que la lumière des vaisseaux ligneux, au moins, ne contient pas de liquide. Une poussée des racines relativement faible est déjà, par conséquent, d'une certaine importance pour le transport de l'eau dans les formations caulinaires des plantes, car elle peut permettre la circulation de l'eau dans les trachéides.

Outre la poussée des racines, d'autres forces interviennent encore dans le mouvement de l'eau chez les plantes qui sont le siège d'une transpiration énergique. Dans ces derniers temps, certains observateurs, surtout Sachs (2), R. Hartig (3), Westermaier (4), Godlewski (5) et Scheit (6), se sont efforcés de les découvrir. A mon avis, en dehors de la poussée des racines, le phénomène de l'imbibition et les pressions dues aux phénomènes osmotiques (ces dernières ont leur siège dans le parenchyme ligneux et les rayons médullaires) jouent un rôle important dans le passage de l'eau dans la plante qui transpire. Il

(1) Voy. Detmer, *Beiträge zur Theorie d. Wurzeldrucks*, in *Physiologischen Abhandlungen* de Preyer, 1877, vol. I, cah. 8, p. 37.
(2) Voy. Sachs, *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie*, 1882, p. 288.
(3) Voy. R. Hartig, *Gasdrucktheorie*, 1883.
(4) Voy. Westermaier, *Bericht. d. deutschen botan. Gesellschaft*, 1883, cah. 8.
(5) Voy. Godlewski, in *Jahrbücher f. wissenschaftl. Botanik de* Pringsheim, vol. 15.
(6) Voy. Scheit, in *Jenaische Zeitschrift f. Naturwissenschaft*, nouvelle série, vol. 12.

est d'une haute importance, pour l'activité des cellules des tissus dont nous avons parlé et pour celle des cellules des racines, que la transpiration produise une pression négative de l'air dans les vaisseaux ligneux et les trachéides.

84. Le passage de l'eau à travers le bois.

Nous nous procurons un morceau de tige ou de branche d'*Abies pectinata* ayant 15-30 centimètres de longueur et 2-4 centimètres de diamètre. L'objet à examiner contiendra une grande quantité d'eau, et il conviendra, en hiver, de plonger dans l'eau une plante vivante et fraîche, longtemps avant l'expérience. Les surfaces de section du bois de sapin, soigneusement polies, se montrent sèches. Si nous portons, à l'aide d'un pinceau, une légère couche d'eau sur la surface de section supérieure de l'organe maintenu dans une position verticale, nous remarquons que cette eau pénètre rapidement dans le bois et que la surface de section à la partie inférieure est mouillée. Si on retourne rapidement le morceau de bois, il y aura répétition du phénomène. L'eau filtre par conséquent très facilement à travers le bois. Il suffit d'une pression minime pour permettre à la filtration de se produire. L'expérience qui va suivre conduira au même résultat. Si on fixe un morceau frais de bois de sapin sur la courte branche d'un tube courbé en U que l'on remplit d'eau, il sort un liquide de la surface de section supérieure du bois jusqu'à ce que la pression soit complètement équilibrée. Un tube en verre de 2-4 centimètres de diamètre *G* (voy. fig. 70), maintenu droit, est fermé à une de ses extrémités par un bouchon de caoutchouc, percé d'un orifice destiné à recevoir un mince tube de verre *R*. A l'autre extrémité du large tube de verre, on mastique un morceau de bois de sapin frais *T*, de façon à empêcher l'accès de l'air (ceux que j'employais avaient 15 centimètres de longueur et 2 centimètres de diamètre). Le tube *R*, courbé deux fois à angle droit, est mis en communication avec le ballon *K*, et celui-ci est relié par le tube de verre *R'* à une pompe à air. Lorsqu'on plonge la surface de section libre du bois dans l'eau, puis qu'on fait le vide, l'eau passe immédiatement à travers le bois et pénètre dans le large tube de verre. Nous construisons ensuite l'appareil que représente la fig. 71.

Un très grand entonnoir *T* est soutenu par un anneau de fer d'un lourd support placé sur une armoire élevée. Le tube de l'entonnoir est relié, au moyen d'un tuyau de caoutchouc, à un tube de verre *G*, de 150 centimètres environ de longueur, dont l'extrémité inférieure pénètre dans un large tube de verre *G'*. La partie inférieure de ce dernier tube est fermée hermétiquement par un morceau de branche d'*Abies pectinata* ou de *Taxus baccata* *A* de 6 centimètres environ de longueur et 2 centimètres de diamètre. Tout l'appareil est ensuite rempli d'eau distillée sans poussière. La pression du liquide fait passer

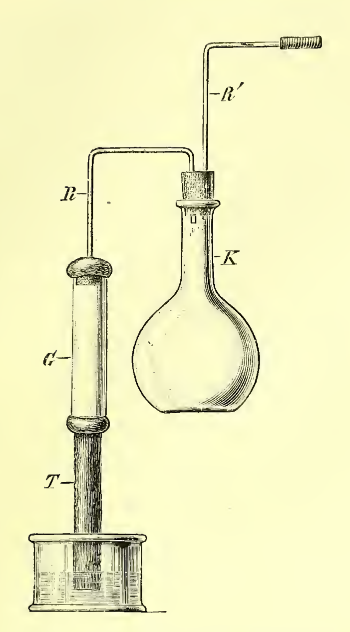


Fig. 70. — Appareil servant à constater que l'eau passe facilement à travers le bois.

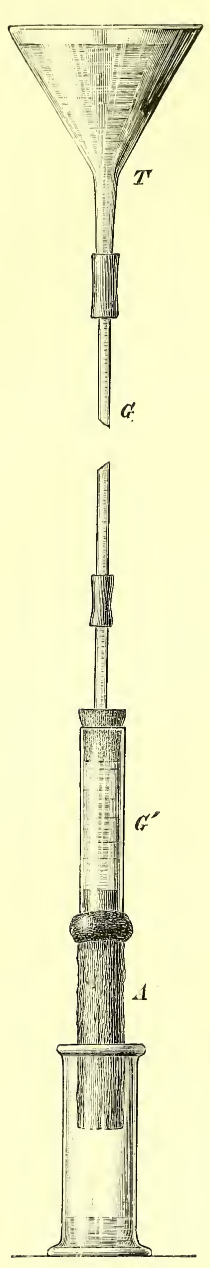


Fig. 71. — Appareil servant à constater que l'eau passe facilement à travers le bois et que les ponctuations aréolées des trachéides sont fermées au moyen d'une membrane.

l'eau à travers le morceau de branche, pourvu ou non de son écorce, de manière qu'une quantité importante de liquide le traverse en peu de temps. La quantité d'eau écoulée ira en diminuant avec le temps, comme il est facile de le démontrer. Pour cela, on fera en sorte que le niveau du liquide dans l'entonnoir reste toujours à la même hauteur. Ce phénomène doit être attribué à l'altération (dissociation) que subit peu à peu la surface de section du bois par laquelle l'eau doit entrer.

A l'aide de notre appareil, nous effectuerons encore une autre expérience, et, au lieu d'eau pure, nous le remplirons d'eau dans laquelle se trouvent de fines particules de cinabre. Pour cela, une grande quantité d'eau distillée sera mélangée du meilleur cinabre; puis le liquide sera filtré plusieurs fois, de sorte que les particules extrêmement fines de cinabre qui y restent suspendues, ne se déposent pas, même après plusieurs jours de repos. L'eau qui passe pendant un jour ou deux à travers le cylindre de bois et parvient à la partie inférieure de notre appareil, est tout à fait

claire. L'examen du morceau de bois lui-même, montre que, seule, sa surface supérieure de section est imprégnée de cinabre jusqu'à une profondeur de quelques millimètres. Des observations au microscope sur de minces sections du bois laissent apercevoir la présence de cinabre dans les trachéides, et nous pourrons finalement interpréter, comme nous allons le faire, les résultats de notre expérience.

Il est clair que les trachéides du bois de sapin qui limitent les surfaces de section du cylindre de bois employé, ont été ouvertes lorsqu'on a préparé le cylindre de bois. L'eau et le cinabre ont pénétré dans ces trachéides lors de la filtration. De plus, il n'est point douteux que l'eau, même sous une pression minime, ne puisse traverser les membranes qui ferment les ponctuations aréolées des trachéides : toutes nos expériences démontrent nettement ce fait. Mais les particules de cinabre ne peuvent passer d'une trachéide à une autre, parce qu'elles ne peuvent traverser les membranes qui ferment les ponctuations. Nous avons donc, par là, la preuve expérimentale de l'existence de membranes de fermeture entre les éléments du bois de conifères (1).

La facilité avec laquelle l'eau peut traverser le bois est un fait d'une grande importance pour la circulation de l'eau dans la partie ligneuse des plantes. L'eau retenue par capillarité dans les trachéides du bois d'angiospermes et de gymnospermes n'est pas immobilisée; nos expériences nous montrent, au contraire, qu'elle peut être facilement mise en mouvement. On doit regarder les pressions qui se développent dans les plantes mêmes, comme la cause de ce mouvement. Lorsqu'une poussée plus ou moins énergique des racines se produit au printemps ou aussi en été, quand la transpiration est faible, elle ne se borne pas à faire toujours pénétrer de nouvelles quantités de liquide dans le bois, mais elle produit encore dans les éléments ligneux un mouvement de l'eau dirigé de bas en haut (2), et c'est là un fait d'où dépend complètement la théorie de la circulation de l'eau dans le bois.

85. La vitesse de la circulation de l'eau dans la plante.

On a souvent cherché à se rendre compte de la vitesse avec laquelle l'eau se meut dans les plantes, en plongeant les matériaux d'étude par leur base dans des solutions de substances colorantes, et en déterminant la hauteur à laquelle la substance colorante parvenait dans les organes de la plante au bout d'un temps déterminé. Cette méthode ne peut cependant conduire à des résultats positifs. Dans la plante, il se produit, notamment, une décomposition de la solution de matière

(1) Th. Hartig, *Botan. Zeitung*, 1863, et surtout Sachs, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. 2, p. 296.

(2) Pour ce qui concerne l'existence générale de la poussée des racines dans le règne végétal, voy. : Scheit, *Jenaische Zeitschrift f. Naturwissenschaft*, nouvelle série, vol. 12, p. 706.

colorante absorbée. La matière colorante sera retenue par certains éléments histologiques (surtout par les cellules lignifiées), tandis que l'eau va continuer à avancer. Il est facile de s'assurer de cette décomposition des solutions de matières colorantes, en plongeant, dans une solution aqueuse étendue de violet de méthylaniline, la partie inférieure d'une bande de papier à filtrer fixée par sa partie supérieure. Au bout de quelques heures, la matière colorante se sera élevée dans le papier jusqu'à une certaine hauteur ; au delà de la limite à laquelle elle est parvenue, le papier se montre humide. Il en résulte que l'eau s'est élevée plus haut que la matière colorante.

Lorsqu'on plonge une bande de papier à filtrer par sa partie inférieure dans une solution à 2 % environ de nitrate de lithium, on s'aperçoit aisément que le sel de lithium s'est élevé jusqu'à la même hauteur que l'eau. Si on coupe, par exemple, la bande transversale de papier encore humide située le plus haut, et qu'on la porte dans la flamme à gaz d'un bec de Bunsen, il sera facile de constater par voie spectroscopique la présence du lithium (apparition dans le spectre de la ligne rouge bien connue du lithium). La solution de nitrate de lithium a été fréquemment employée par Sachs (1) pour déterminer la rapidité du mouvement de l'eau dans la plante, et nous effectuerons aussi nos expériences de la même façon que Sachs.

Il est nécessaire, pour des raisons faciles à concevoir, de faire les expériences, non sur des organes végétaux détachés, mais sur des plantes enracinées absolument intactes. Nous pourrons, par exemple, effectuer nos expériences sur des saules. On cueillera, au printemps, des rameaux de l'année précédente que l'on plongera par la base dans des solutions de matières nutritives, et que l'on n'examinera qu'au bout de quelques semaines alors que les rameaux auront développé de nombreuses racines ainsi qu'un grand nombre de feuilles. On pourrait cependant aussi employer des plantes de maïs qui se sont développées à l'aide de la méthode de la culture dans l'eau ou des exemplaires de *Nicotiana*, de *Cucurbita*, d'*Hélianthus*, etc., obtenus dans des pots contenant une bonne terre de jardin. Les plantes devront être robustes et pourvues de nombreuses feuilles. Avant de commencer les expériences, on place les plantes pendant un jour ou deux devant une fenêtre tournée vers le sud, de manière à les exposer aux rayons du soleil et à une haute température. La terre des pots, pendant ce temps, ne sera pas arrosée. Immédiatement avant le début de l'expérience sur l'absorption de la solution de lithium par les plantes, celles-ci, si elles sont restées jusqu'ici plongées dans une solution nutritive, en seront retirées pour être mises dans une dissolution à 2 % de nitrate de lithium. Si on travaille, au contraire, sur des plantes enracinées dans la terre, on mouillera fortement la terre des pots avec une solution de lithium à 2 %. Les

(1) Voy. Sahcs, *Arbeiten d. Botan. Instituts in Würzburg*, vol. 2, p. 148.

matériaux d'étude resteront placés dans des conditions très favorables pour la transpiration. Au bout de quelques heures, on coupera les tiges des plantes au niveau du sol, on les réduira de haut en bas en petits morceaux, et on découpera les feuilles. Il est nécessaire que ces opérations soient effectuées proprement, afin que le couteau ne transporte pas dans une autre partie de la plante le lithium qui pourrait se trouver dans une certaine partie. Pour relever la présence de lithium, de minces morceaux de tige des matériaux d'études découpés ou de petits fragments de feuilles seront pris à l'aide d'une petite pince et maintenus dans la flamme à gaz vers laquelle on a dirigé le spectroscope. De grandes quantités de lithium s'aperçoivent immédiatement; de petites ne se voient que lorsque la cendre est incandescente. Pour ne point obtenir de chiffres trop élevés pour les hauteurs d'ascension du sel de lithium (et par conséquent aussi de l'eau), on ne considèrera que la distance qui sépare le collet de la racine du morceau de tige ou de feuille, montrant la présence de lithium situé le plus haut. Il est parfois bon aussi pour y relever la présence de lithium d'enlever un simple fragment de feuille aux plantes, sans les décapiter, au bout d'un temps déterminé d'expérimentation. Un fait digne de remarque et de l'exactitude duquel je me suis souvent assuré, en vérifiant la méthode de Sachs pour la détermination de la rapidité du mouvement de l'eau dans les plantes, c'est que l'on peut quelquefois constater dans les feuilles des matériaux d'étude la présence de quantités considérables de lithium, alors qu'il n'en est pas de même pour les fragments de tige placés plus bas. Il est notoire que le sel de lithium se trouve souvent en plus grande quantité dans les tissus foliaires que dans les diverses parties de la tige. Sachs a obtenu les données qui vont suivre, concernant les hauteurs auxquelles parviennent l'eau et le sel de lithium dans les plantes.

	Hauteur atteinte au bout d'une heure.
Salix fragilis................	85 centimètres.
Zea Mays.................	36 »
Nicotiana Tabacum...........	118 »
Cucurbita Pepo...............	63 »
Helianthus annuus.......... .	63 »

86. Le flétrissement des plantes.

Lorsque, dans une plante, les pertes dues à la transpiration sont constamment supérieures à l'absorption d'eau, la plante se fane graduellement. Les feuilles deviennent flasques et, si on ne fournit point d'eau, finissent par se dessécher. Si, au contraire, on arrose la terre dans laquelle sont enracinées des plantes cultivées en pots (par exemple des fèves ou des courges), qui viennent de se faner, les cellules des feuilles

regagnent immédiatement leur turgescence et les matériaux d'étude reprennent rapidement un aspect frais. Le même phénomène se produira aussi, sans qu'on fournisse de l'eau aux plantes fanées, si l'on prend soin de diminuer l'énergie de leur transpiration, en les plaçant, par exemple, sous une cloche de verre.

Lorsqu'on coupe des branches d'arbres ou d'arbustes abondamment pourvues de feuilles, et qu'on les plonge dans l'eau par l'extrémité inférieure de la portion ligneuse de leur tige, ces matériaux d'étude restent d'ordinaire frais pendant des jours entiers. Il est beaucoup plus singulier que les branches de certaines plantes, traitées de cette façon, se fanent très rapidement, bien que leur portion caulinaire soit fortement lignifiée. D'après mes observations, c'est le cas, par exemple, pour les rameaux de *Salix fragilis*. En général, cependant, les pousses coupées et placées dans l'eau restent d'autant plus longtemps fraîches que les productions ligneuses de leur portion caulinaire sont plus développées. Les pousses d'*Helianthus tuberosus* coupées et placées dans l'eau restent fraîches pendant plusieurs jours lorsqu'elles ont à peu près un mètre de longueur; celles qui n'ont que 20 à 30 centimètres de longueur, placées dans l'eau, se flétrissent, au contraire, très rapidement; ce sont les plus jeunes feuilles étalées qui se fanent d'abord, puis les plus vieilles.

Nous effectuerons maintenant sur l'*Helianthus tuberosus* l'expérience très instructive qui va être indiquée. De longues pousses d'*Helianthus* sont pliées vers le bas, sans être détachées de la plante et sans être trop fléchies, de manière à plonger dans l'eau d'un vase placé au-dessous par un endroit situé à 20 centimètres du sommet, et de telle sorte que le sommet et les feuilles ne soient pas mouillés. Puis, au moyen d'une découpure produite avec un couteau bien aiguisé, nous séparerons de la plante la portion terminale de la pousse, sur une longueur de 20 centimètres. Nous ferons en sorte que la surface de section ne vienne pas en contact avec l'air, et reste toujours plongée sous l'eau. La pousse reste fraîche pendant plusieurs jours, tandis qu'une pousse d'*Helianthus*, de 20 centimètres de longueur, coupée dans l'air et placée immédiatement dans l'eau (après 1/2 à 2 minutes, par exemple), se fane rapidement. Divers procédés permettront cependant de rendre sa turgescence à la pousse flétrie d'*Helianthus*. Si on enlève quelques-unes des feuilles fanées, les autres feuilles prendront bientôt un aspect frais, parce que la perte due à la transpiration de l'organe sera alors couverte par l'absorption d'eau. Une pousse flétrie d'*Helianthus* sera fixée, à l'aide d'un tuyau ou d'un bouchon de caoutchouc, pour empêcher l'accès de l'air, sur la courte branche d'un tube de verre courbé en U renfermant de l'eau, de manière que la surface de section soit plongée dans le liquide. On versera ensuite du mercure dans la longue branche du tube. Une pression mercurielle de quelques centimètres ne suffira évidemment pas

pour rendre sa fraîcheur au rameau flétri, mais si l'eau est chassée dans la pousse fanée d'*Helianthus* avec une pression de 30-50 centimètres de mercure, la pousse regagnera sa turgescence. A l'aide d'un couteau bien aiguisé, nous couperons, sous l'eau, un morceau de tige de 5 centimètres de longueur, d'une pousse fanée d'*Helianthus* de 20 centimètres de longueur, dont la base est plongée dans l'eau, et nous veillerons à ce que la nouvelle surface de section ne subisse pas le contact de l'air. La pousse prendra bientôt un aspect frais et regagnera sa turgescence.

Nos expériences sur les pousses d'*Helianthus*, qui peuvent être répétées d'ailleurs sur d'autres plantes, nous montrent surtout que les pousses se fanent lorsqu'elles sont plongées dans l'eau aprèsavoir été coupées dans l'air, alors qu'elles restent fraîches lorsqu'elles sont coupées sous l'eau. Ce phénomène remarquable est dû à plusieurs causes. Lorsqu'on coupe dans l'air des organes végétaux, les substances gélatineuses ou gommeuses qui apparaissent sur la surface blessée, au lieu d'être écartées, adhèrent à la surface de section et diminuent ainsi le pouvoir d'absorption du tissu pour l'eau. Lorsque la section est faite dans l'air, la pression négative qui s'observe dans les éléments ligneux des plantes intactes qui transpirent (voy. § 65), est plus ou moins équilibrée : ce qui nuit considérablement à la circulation de l'eau dans les tiges. Comme il est facile de le concevoir, ces diverses conséquences ne se produisent pas lorsque les pousses sont coupées sous l'eau (1).

VII. ABSORPTION DES MATIÈRES MINÉRALES PAR LES PLANTES.

87. Les racines des plantes, comme organes d'absorption des matières minérales.

Les racines sont destinées à fixer les plantes au sol et à servir d'organes d'absorption pour l'eau et les matières minérales. L'importance des racines, comme organes d'absorption, est mise clairement en évidence lorsqu'on cultive des plantes dans une solution nutritive aqueuse, au moyen de la méthode de culture dans l'eau. Mais il se trouve fréquemment aussi des solutions nutritives dans le sol où croissent les plantes, car les liquides retenus par les éléments du sol et circulant entre eux ne représentent pas de l'eau pure, mais des

(1) Voy. H. de Vries in *Arbeiten d. Botan. Instituts in Würzburg*, vol. 1, p. 287, et F. v. Höhnel in *Wissensch.-praktischen Forschungen auf d. Gebiete d. Pflanzenbaues*, vol. 2, p. 120.

solutions nutritives étendues. L'eau peut dissoudre et décomposer les éléments du sol. Ces derniers cèdent à l'eau leurs matières minérales, dissoutes ou non, et le pouvoir dissolvant du liquide est parfois considérablement augmenté par la présence de grandes quantités d'acide carbonique qui peuvent être produites dans le sol par des phénomènes de putréfaction.

Je ne m'étendrai pas davantage ici sur l'absorption par les racines des matières minérales contenues dans les solutions nutritives, j'aurai l'occasion de m'en occuper dans le § 88, et j'exposerai certaines observations intéressantes concernant le rôle des racines dans le sol.

Nous ferons germer quelques grains de froment dans un pot à fleurs contenant une bonne terre de jardin, et nous retirerons les plantules avec soin de la terre lorsqu'elles auront développé quatre ou cinq racines. Si on secoue vigoureusement les plantules, on fera tomber une quantité considérable de la terre qui s'attachait aux racines ; une autre partie restera cependant adhérente aux racines. La surface tout entière des racines est enveloppée d'une couche de terre; seul, le sommet des racines est exempt de particules terreuses. Un examen minutieux des racines, au microscope, nous apprend que leur sommet ne porte pas de poils alors que tout le restant de leur surface en est recouvert. Les plus fins éléments du sol sont fortement attachés à ces cellules longuement étirées. Les poils se moulent sur les particules du sol, comme il est facile de le voir sous un fort grossissement. Les poils radicaux constituent donc les organes au moyen desquels s'effectue surtout l'absorption de l'eau et des matières minérales par les racines. Ils puisent dans le sol les solutions nutritives étendues qui s'y trouvent; mais en agissant, de la façon indiquée dans le § 90, sur les particules du sol auxquelles ils sont fortement accolés, ils préparent eux-mêmes aussi pour la plante des solutions nutritives qui ne tardent pas à pénétrer dans l'organisme.

Lorsqu'on cultive des plantes de *Triticum vulgare*, pendant cinq semaines environ, dans une bonne terre de jardin, et qu'on retire alors avec soin les matériaux d'étude de la terre, on remarque, après les avoir vivement secoués, qu'il n'y a plus de terre attachée au sommet des racines et sur toutes les portions âgées des racines, mais qu'il en reste sur les régions jeunes de ces organes au-dessus de leur sommet. Ces régions jeunes se montrent couvertes de nombreux poils. Ceux des parties âgées sont déjà détruits (1).

Divers observateurs ont établi que l'apparition de poils sur les racines des plantes se trouve sous la dépendance d'une série de facteurs extérieurs, parmi lesquels les conditions d'humidité jouent le rôle le plus important (2). Si nous cultivons des germinations de *Zea*, d'*Avena*,

(1) Voy. SACHS, *Handbuch der Experimentalphysiologie der Pflanzen*, 1865, p. 185.

(2) Voy. FR. SCHWARZ, in *Untersuchungen aus d. botan. Institut zu Tübingen*, vol. 1, cah. 2.

de *Triticum*, de *Pisum* ou de *Phaseolus* dans de la terre de jardin mouillée modérément, nous pourrons constater, au microscope, sur de minces sections longitudinales ou transversales, que les racines quelque peu développées ont produit un grand nombre de poils. Nous ferons ensuite germer quelques graines de ces mêmes plantes en l'absence de terre; et, pour cela, nous porterons quelques graines gonflées ou en germination à la surface d'un morceau de tulle étendu sur un vase en verre rempli d'eau. Ce vase sera alors placé dans un cristallisoir contenant une petite quantité d'eau, et nous le recouvrirons d'une cloche de verre dont le bord inférieur plonge dans l'eau du cristallisoir. Pendant la germination des graines, nous veillerons, en soulevant fréquemment la cloche de verre, à ce que les matériaux d'étude n'aient pas à souffrir du manque d'oxygène. Les racines de certaines plantes (*Avena*, *Triticum*), qui se développent dans l'eau du vase de verre possèdent des poils radicaux, comme les racines qui ont crû dans un sol modérément mouillé; j'ai eu l'occasion de m'en assurer en effectuant des recherches sur le *Triticum vulgare*. D'après Fr. Schwarz, les racines de *Zea*, de *Pisum* et de *Phaseolus*, au contraire, ne produiraient pas de poils dans l'eau. Je dois cependant faire remarquer que j'ai vu apparaître de nombreux poils sur des racines principales de *Zea Mays*, d'un aspect tout à fait normal et dirigées verticalement, au moins sur celles qui se sont formées dans l'eau. Il se peut que les racines des différentes variétés de maïs ne se comportent pas de la même manière à cet égard. Il n'est peut-être pas indifférent que les racines se développent dans l'eau ordinaire ou dans l'eau distillée, dans l'obscurité ou sous l'action de la lumière. J'ai trouvé que les racines principales de pois, développées dans l'eau distillée et à l'obscurité, étaient privées de poils, alors qu'elles en étaient abondamment pourvues quand leur développement s'était effectué dans la terre de jardin.

88. L'absorption, par les racines, des matières minérales des solutions nutritives.

Dans mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie* (p. 136), j'ai déjà fait remarquer que les circonstances qui influent sur l'absorption par les racines des matières minérales des solutions nutritives, sont d'une nature très complexe et n'ont pas encore reçu d'explication plausible. Le résultat que l'on obtiendra finalement ne dépendra pas seulement du degré de concentration de la solution, de la nature des substances nutritives en présence, de leur emploi par l'organisme, etc., mais encore de la nature de la plante, des conditions extérieures du milieu dans lequel le développement s'est effectué, et encore d'autres circonstances. De nouvelles recherches donneront ici des expli-

cations plus détaillées, si on analyse minutieusement le phénomène tout entier. Nous pourrons rechercher de quelle manière s'effectue l'absorption des matières minérales par les racines, lorsque ces dernières n'ont à leur disposition que la solution aqueuse d'un sel unique, question certainement intéressante pour l'absorption par les racines des matières minérales des solutions nutritives complètes.

Nous laisserons gonfler dans l'eau un certain nombre de graines bien conformées de *Phaseolus multiflorus*, que nous ferons ensuite germer dans de la sciure humide. Nous déterminerons alors le poids vif de chacune des plantules, et nous les fixerons séparément, au moyen d'ouate, dans l'orifice du bouchon d'un vase de verre d'une capacité quelque peu supérieure à 100 c. c. Quelques vases auront reçu, au préalable, 100 c. c. d'une solution à 0,250 % de nitrate de potassium; les autres, 100 c. c. d'une solution à 0,075 ou à 0,050 %. Nous pèserons les vases, puis nous les laisserons séjourner dans un endroit bien éclairé jusqu'à ce qu'ils aient perdu environ 50 grammes de leur contenu, c'est-à-dire jusqu'à ce que les racines des haricots aient soutiré à peu près la moitié de la quantité primitive du liquide. Les matériaux d'étude seront alors retirés des solutions pour être lavés à l'eau distillée (nous ajouterons ensuite cette eau au restant du liquide des vases), desséchés au moyen de papier à filtrer et enfin pesés. Nous pourrons ainsi déterminer, d'une part, la quantité d'eau évaporée par l'action de la plante, d'autre part, celle qui est venue augmenter le poids des plantes vivantes. Ce mode d'expérimentation n'est pas à l'abri des causes d'erreur, car au moyen d'ouate, on ne peut fermer les appareils hermétiquement : de sorte qu'une petite quantité d'eau peut passer dans l'air sans le secours de la plante. Mais il est facile de calculer ces erreurs et par conséquent aussi de les annuler, en déterminant la perte de poids subie par quelques vases remplis au moyen de 100 c. c. de la solution saline, non pourvus de plantes, mais fermés par un bouchon et de l'ouate. Il n'y a de même aucune difficulté à mesurer l'augmentation de poids de la substance sèche des matériaux d'étude pendant le temps de leur végétation. Si nous déterminons enfin la teneur en sels du restant de liquide des vases, nous aurons toutes les données nécessaires pour le calcul. Celui-ci nous montre que les haricots absorbent une quantité relativement grande d'eau et peu de substance saline d'une solution à 0,250 % de nitrate de potassium. Le liquide restant aura une concentration supérieure à celle de la solution offerte aux plantes qui ont servi aux expériences (loi de De Saussure) (1). Lorsqu'ils sont en contact avec des solutions à 0,075 et 0,050 % de nitrate de potassium, les haricots absorbent au contraire une solution relativement concentrée; le liquide restant sera donc

(1) Voy. De Saussure, *Recherches sur la végétation*, 1804, p. 247.

plus étendu qu'au début (1). En tout cas, il était intéressant de constater que les racines végétales ne prennent pas intégralement les solutions nutritives mises à leur disposition, mais qu'elles absorbent, suivant les circonstances, avec une quantité d'eau déterminée des quantités de sel tantôt plus grandes tantôt plus petites. Nous arriverons d'ailleurs aussi à un résultat à peu près exact en cultivant des plantules de haricots, de la façon donnée, dans des vases en verre contenant 100 c. c. de solutions de nitrate de potassium de diverses concentrations, et en déterminant simplement, sans autre pesée, la teneur en salpêtre du restant du liquide, après que la moitié de la quantité primitive de liquide aura été absorbée.

89. Les phénomènes de corrosion.

Les racines ne sont pas seulement en état de pourvoir les plantes d'aliments en absorbant des solutions nutritives toutes préparées, mais elles peuvent encore soustraire aux éléments compacts du sol des substances absorbées ou combinées. Les cellules absorbantes des racines, surtout les poils radicaux, sécrètent toujours comme nous le verrons dans le § 90, certaines substances qui pourront dissoudre les particules du sol, lorsqu'elles se trouveront dans les membranes des poils radicaux imbibées d'eau et exactement appliquées contre les particules du sol. De cette façon, les éléments du sol subiront des corrosions, et les substances dissoutes par l'action même des racines pénètreront dans la plante.

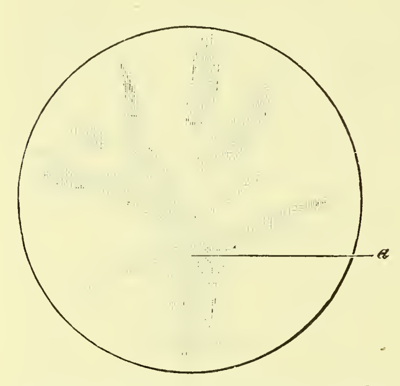


Fig. 72. — Lame de marbre dont la surface a été corrodée par les racines d'un *Phaseolus*.

Pour constater que les racines peuvent produire des corrosions, nous effectuerons l'expérience qui va suivre. Un petit pot à fleurs sera à demi rempli de sable humide. Nous placerons sur le sable une lame de marbre dont la surface a été polie avec soin. La lame de marbre, qui me servait dans cette expérience et dont les corrosions, à la suite de l'expérience, sont représentées par la fig. 72, possédait 45 millimètres de diamètre et 7 millimètres d'épaisseur. Le pot à fleurs sera ensuite complètement rempli de sable humide et recevra une graine gonflée de *Phaseolus*. La germination ne tardera pas à s'effectuer. Les racines de la plantule pénétreront dans le sable et se dirigeront vers le bas, mais au bout de quelque temps elles rencon-

(1) Voy. W. Wolf, *Versuchsstationen*, vol. 6 et 7.

treront la lame de marbre. Elles ramperont alors sur celle-ci pour se diriger de nouveau plus ou moins verticalement dans le sable lorsqu'elles auront atteint le bord de la lame. Si on interrompt l'expérience, qu'on retire la lame de marbre du sable humide, qu'on la lave avec de l'eau et qu'on l'essuie enfin avec un linge mou, on remarquera à sa surface une fidèle copie des parties de la racine qui étaient appliquées sur elle. La polissure est enlevée aux points de contact du marbre et des racines. J'ai obtenu, comme on le voit par la fig. 72, des traces de corrosion assez larges, phénomène qui était dû évidemment à l'action corrosive des poils radicaux dirigés latéralement. La racine principale, dont la croissance s'effectue vers le bas, a rencontré la lame de marbre en *a*, puis elle a pris la direction indiquée par un large trait sur la figure; les autres traces de corrosion ont été produites par les racines latérales. Remarquons encore qu'il est bon de ne point laisser végéter trop longtemps les haricots dont les racines exercent une action corrosive (mais seulement 10 à 14 jours environ). Lorsque les expériences sont de trop longue durée, un grand nombre de racines viennent en contact avec la lame de marbre, de sorte que les traces de corrosion de chacune des racines ne sont plus nettement accusées (1).

90. Causes des phénomènes de corrosion.

Les phénomènes de corrosion ne sont pas dûs uniquement au dégagement par les racines, étroitement appliquées sur des masses pierreuses ou des particules du sol, de certaines substances capables d'attaquer ces substances minérales. Il y a lieu, naturellement, de songer avant tout à l'acide carbonique formé dans les cellules des racines par le phénomène de la respiration. De plus, les acides organiques et même l'acide chlorhydrique doivent être considérés comme des substances intervenant aussi dans la production de corrosions. Lorsque les membranes cellulaires des cellules des racines sont imbibées de solutions étendues de ces substances, l'action des racines sur les éléments pierreux ou terreux ne tarde pas à se produire, comme le démontre clairement l'expérience que nous allons effectuer (2).

Nous construirons l'appareil que représente la fig. 73. Un large tube de verre, fermé à sa partie supérieure par un morceau de vessie de porc, est complètement rempli d'une solution étendue d'acide chlorhydrique. Nous bouchons à l'aide du pouce l'extrémité inférieure du tube

(1) Les phénomènes de corrosion ont été étudiés pour la première fois d'une façon détaillée par Sachs dans son *Handbuch der Experimentalphysiologie der Pflanzen,* 1865, p. 188.

(2) Cette expérience a été faite pour la première fois par Zöller, sur le conseil de Liebig.

de verre, et nous introduisons cette extrémité du tube dans un petit vase en verre G contenant une solution étendue d'acide chlorhydrique. Ce dernier est fermé au moyen d'un bouchon percé d'une ouverture. Dans notre appareil, le liquide représente le contenu de la cellule; la vessie de porc, la membrane des cellules des racines. Si nous plaçons un petit morceau de marbre M sur la vessie de porc imbibée de la solution étendue d'acide chlorhydrique, nous remarquerons aussitôt que le marbre est en partie dissous et que la solution de chlorure de calcium formée passe par diffusion dans l'acide chlorhydrique. Nous pourrons facilement relever la présence de calcium dans le liquide au moyen d'oxalate d'ammonium. Les solutions qui se trouvent dans les cellules des racines et imbibent leurs parois attaquent de la même façon les éléments pierreux et terreux; il se produit ainsi des corrosions, et les substances dissoutes sont attirées par la plante.

Je crois pouvoir conclure des expériences qui vont suivre, effectuées récemment par moi, et qui devraient pouvoir être étendues pour résoudre la question d'une façon certaine, que ce n'est point seulement l'acide carbonique et les acides organiques, mais encore l'acide chlorhydrique, qui jouent un rôle dans la production des phénomènes de corrosion. Nous cultivons des plantes de maïs, à l'aide de la méthode de culture dans l'eau (voyez § 1), dans un liquide qui, sur 1,000 gr. d'eau, contient 1 gr. de sulfate de potassium, 1/4 gr. de chlorure de potassium, 1/4 gr. de sulfate de magnésium, 1/4 gr. de phosphate acide de potassium et une légère quantité de chlorure de fer. Il n'est point nécessaire de faire usage de grands vases de culture; il suffit qu'ils puissent contenir 250 c. c. de liquide. Lorsque les plantes de maïs ont développé leur quatrième feuille dans les solutions nutritives non azotées, elles sont fort avides d'azote. Deux plantes de maïs seront alors retirées de la solution et placées dans deux vases, dont l'un (*a*) contient de l'eau, et l'autre (*b*), une solution à 0,1 % de chlorure d'ammonium. Un troisième vase (*c*), sans plante, recevra aussi une solution de chlorure d'ammonium. Une plante (*d*) sera laissée dans la solution nutritive non azotée, une autre plante (*e*) continuera de même à séjourner dans la solution nutritive primitive, mais après qu'on y aura ajouté du chlorure d'ammonium (0,1 gr. sur 100 c. c. d'eau). Après 8 jours environ, des bandes de papier de tournesol seront placées, pendant 30 minutes, en contact avec les liquides de *b* et *e*; d'autres, pendant 15 secondes, avec ceux de *a* et *d*, et ensuite 15 secondes aussi avec celui de *c*. Les premières bandes de papier bleu de tournesol auront pris une coloration rouge beaucoup plus intense que les dernières; ce fait ne peut être expliqué qu'en admettant que le chlorure d'ammonium a été décomposé par la plante avec mise en liberté d'acide chlorhydrique. Le chlorure d'ammonium qui a pénétré dans les tissus des plantes vient rencontrer des acides organiques dans les cellules. Ces acides décomposent le chlorure et, comme l'acide chlo-

rhydrique ne trouve pas d'emploi dans les plantes, il se produira un dégagement d'acide chlorhydrique dans la solution nutritive : ce qui augmentera son acidité.

L'expérience que nous allons effectuer permettra de constater que les acides organiques peuvent aussi décomposer les chlorures en dehors des plantes et régénérer de l'acide chlorhydrique.

Nous prenons deux vases cylindriques contenant 500 c. c. d'eau distillée. L'un (*a*) recevra 3 gr. d'acide oxalique; l'autre (*b*), outre les 3 gr. d'acide oxalique, 0,4 gr. de Na Cl. Puis nous suspendrons une lame de marbre dans les deux vases, de la façon qui a été indiquée dans le § 23. Le liquide en *a* restera clair, parce que la lame de marbre a été rapidement entourée par une croûte d'oxalate de calcium qui met obstacle à l'action ultérieure de l'acide oxalique. Le liquide en *b* montrera bientôt, au contraire, un trouble considérable qui ne peut admettre d'autre explication que celle que nous allons donner. L'acide oxalique décompose le chlorure de sodium. L'acide chlorhydrique mis en liberté réagit à son tour avec le marbre. Il se forme du chlorure de calcium qui réagit alors avec l'acide oxalique. L'oxalate de calcium produit se dépose immédiatement en grande quantité et provoque le trouble du liquide.

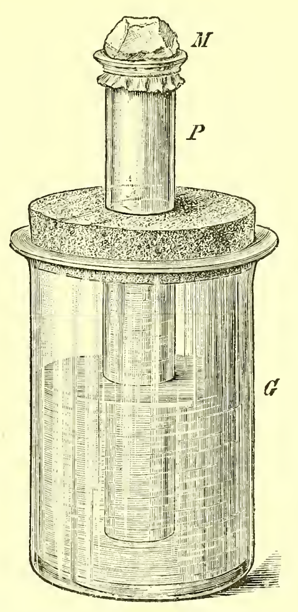


Fig. 73. — Appareil pour l'explication de quelques phénomènes accompagnant la corrosion.

Il résulte de mes recherches que l'on peut aussi démontrer d'une autre façon que les acides organiques peuvent décomposer les chlorures (1). On prépare six liquides d'expérimentation : *a*, 15 c. c. d'eau distillée; *b*, 15 c. c. d'eau avec 0,020 gr. d'acide citrique; *c*, 15 c. c. d'eau avec 0,7 gr. de chlorure de potassium; *d*, 15 c. c. d'eau avec 0,7 gr. de chlorure de sodium; *e*, 15 c. c. d'eau avec 0,020 gr. d'acide citrique et 0,7 gr. de chlorure de potassium; *f*, 15 c. c. d'eau avec 0,020 gr. d'acide citrique et 0,7 gr. de chlorure de sodium. Les liquides sont laissés en repos pendant 24 heures environ et additionnés alors de quelques gouttes d'une solution aqueuse très étendue de violet de méthylaniline. Les liquides *a*, *b*, *c* et *d* prendront à peu près la même teinte violette; les liquides *e* et *f* montreront au contraire une coloration bleue très nette. Cette réaction indique la présence d'acide chlorhydrique libre, car tandis que des solutions très étendues d'acide citrique modi-

(1) Voy. Detmer, *Botan. Zeitung*, 1884, n° 50.

fient à peine la couleur du violet de méthylaniline, cette matière colorante prend, au contraire, une couleur bleue sous l'action d'une solution très étendue d'acide chlorhydrique.

91. Le pouvoir d'absorption du sol.

Un fait très important, c'est que le sol est en état de retenir très énergiquement (d'absorber) une série de corps qui viennent en contact avec lui. Le potassium, l'ammoniaque et l'acide phosphorique sont les substances les plus énergiquement absorbées, ce qui les empêche de s'enfoncer profondément. Il est clair que ce fait est d'une haute importance pour la vie végétale. Lorsque des dissolutions salines dans l'eau, contenant du potassium, de l'ammoniaque ou de l'acide phosphorique, qui sont produites dans le sol même ou qui lui sont ajoutées directement de l'extérieur, viennent en contact avec les particules de la terre fine, il se produit une absorption plus ou moins vive de ces substances, suivant la nature du terrain. Elles seront fixées chimiquement. Assurons-nous expérimentalement du fait de l'absorption d'un corps, notamment de l'ammoniaque (méthode de Knop) (1).

On fera un mélange intime de 100 gr. de terre fine desséchée à l'air (voy. le § 24 pour la préparation de la terre fine), avec 10 gr. de craie en poudre, et on le placera dans un flacon qui renferme 200 c. c. d'une solution de chlorure d'ammonium, contenant exactement 1 gr. de chlorure d'ammonium sur 208 c. c. de liquide. On laisse la terre en contact avec le liquide pendant 48 heures environ, en ayant soin de secouer fréquemment le flacon, puis on filtre 40 c. c. du liquide et on évapore jusqu'à 10 c. c. environ. On dose l'azote contenu dans les 10 c. c. de liquide, ainsi que dans les 40 c. c. de la solution primitive de chlorure d'ammonium concentrée, puisqu'elle a été réduite à 10 c. c. par évaporation. Les 40 c. c. de la solution de chlorure d'ammonium doivent donner exactement 40 c. c. d'azote (à 0° C. et sous une pression barométrique de 760 millimètres) si la solution a été préparée avec soin. Il sera facile de calculer la quantité d'ammoniaque absorbée par le sol à l'aide des résultats que fournissent les dosages de l'azote effectués au moyen d'un azotomètre (pour cet instrument, voy. *Zeitschrift f. analytische Chemie*, vol. 9, p. 226, et vol. 13, p. 101 et p. 383) et d'une lessive bromée de soude. La lessive bromée (dissolution d'hypobromite de sodium) se prépare en dissolvant 100 gr. de soude caustique dans 1250 c. c. d'eau, et en ajoutant après refroidissement 25 c. c. de brome au liquide obtenu. Dans chaque expérience, on emploiera 50 c. c. de lessive pour 10 c. c. de solution de

(1) Pour ce qui concerne l'étude détaillée du pouvoir d'absorption du sol et de ses causes, voy. DETMER, *Lehrbuch d. Bodenkunde*, Leipsick, 1876.

chlorure d'ammonium concentrée par évaporation. Pour calculer l'absorption d'azote effectuée par 60 c. c. du liquide de dégagement (50 c. c. de la lessive bromée et 10 c. c. d'eau), on fera usage des tables calculées par Dietrich (*Zeitschrift f. analytische Chimie*, vol. 5). On pourra se procurer l'azotomètre, pour le prix de 30 marcs environ, à la maison Ehrhardt et Metzger à Darmstadt.

TROISIÈME DIVISION.

LES TRANSFORMATIONS CHIMIQUES DANS L'ORGANISME VÉGÉTAL.

I. — LE ROLE DES COMBINAISONS AZOTÉES.

92. Les matières albuminoïdes que l'on peut séparer des organes végétaux.

Nous ferons ici complètement abstraction des productions plasmatiques organisées des cellules végétales, et nous démontrerons que différentes matières albuminoïdes peuvent se rencontrer dans l'organisme végétal.

Lorsqu'on broie des grains d'orge ou de froment, et qu'on laisse la poudre obtenue en contact avec de l'eau pendant quelque temps, on obtient, après filtration, un liquide clair dans lequel on pourra constater la présence d'albumine. Si on chauffe ce liquide, l'albumine se coagule et se sépare sous forme de coagulum. On aura de même un coagulum d'albumine, en chauffant, après l'avoir filtré, le jus exprimé des fruits (des raisins, par exemple).

La légumine des haricots, des pois, etc., la conglutine du lupin et la caséine du gluten des céréales appartiennent à la seconde des grandes classes dans lesquelles on a réparti les matières albuminoïdes d'origine végétale : aux caséines végétales. Nous examinerons la conglutine d'une manière quelque peu plus détaillée. Des graines de *Lupinus luteus* seront broyées au moyen d'un petit moulin; la poudre obtenue sera arrosée d'eau distillée et ce mélange, additionné d'une quantité suffisante d'hydrate de potassium pour lui donner une réaction légèrement alcaline. Au moyen d'un tamis de crin, on séparera, des débris de graines, un liquide contenant de la conglutine, qui sera ensuite filtré et très légèrement acidulé à l'aide d'acide acétique. La conglutine qui aura traversé le tamis sera recueillie sur un filtre et lavée à l'eau. La conglutine est insoluble dans l'eau. Mais si elle se trouve en suspension dans l'eau, elle se dissout par l'addition d'acide phosphorique,

d'acide acétique, d'acide citrique ou d'une dissolution de phosphate bisodique ($Na^2 HPO^4$) (1).

Les représentants de la troisième classe des matières albuminoïdes végétales se rencontrent surtout et en grandes quantités dans la farine de froment. Celle-ci sera délayée dans l'eau, et la pâte obtenue, triturée entre les doigts sous un mince filet d'eau continu. Il restera une masse visqueuse, élastique, le gluten, mélangée encore d'une petite quantité d'amidon. Le gluten, soluble dans l'eau renfermant de la potasse, est constitué par une série de matières albuminoïdes (matières protéiques du gluten), notamment par la fibrine du gluten, la gliadine et la mucédine qui peuvent en être partiellement retirées par l'acool (2).

93. Les réactions macro et microchimiques de l'albumine.

On obtient une des réactions microchimiques les plus sensibles de l'albumine (réaction du biuret) en faisant bouillir une solution aqueuse d'albumine, ou de l'eau contenant en suspension une petite quantité de conglutine provenant de graines de lupin, puis en ajoutant un peu de lessive de potasse et en portant à l'aide d'une baguette de verre dans le liquide bouillant une goutte de la liqueur de Fehling. Une coloration violette indiquera la présence de matières albuminoïdes dans le liquide soumis à l'expérimentation. Pour préparer la liqueur de Fehling, on dissoudra, dans 200 c. c. d'eau, 34,65 gr. de sulfate de cuivre purifié par cristallisation. Cette dissolution sera mélangée avec une dissolution de 173 gr. d'acétate sodo-potassique dans 480 c. c. d'une solution d'hydroxyde de sodium ayant 1,14 pour poids spécifique, et on diluera le liquide à 15° C. jusqu'à 1000 c. c.

On sait qu'il existe, à côté des grains d'amidon, de grandes quantités d'albumine dans les cellules du parenchyme cotylédonaire du *Phaseolus*. Pour étudier les réactions microchimiques de l'albumine, il est commode d'employer des sections pratiquées dans les cotylédons de haricots et possédant au moins deux couches de cellules. Quelques c. c. d'une solution concentrée de sulfate de cuivre (3) ou d'une solution d'acétate cuivrique (4) seront versés dans un petit vase. L'acétate cuivrique se prépare en mélangeant 5 parties de sulfate de cuivre en dissolution avec 9 parties d'acétate simple de potassium en dissolution, et en séparant par filtration le sulfate de potassium formé dont la solubilité est relativement minime. Les coupes placées dans

(1) Pour ce qui concerne les détails, voy. DETMER in *Forschungen auf dem Gebiete der Agriculturphysik*, vol. 2, cah. 4. Je ne m'occuperai pas davantage ici des recherches de WEYL sur la caséine végétale (voy. DETMER, *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, 1883, p. 157).

(2) Pour ce qui concerne les détails, voy. RITTHAUSEN, *Die Eiweisstoffe d. Getreidearten*, 1872, p. 28.

(3) Voy. SACHS, in *Jahrbücher* de PRINGSHEIM, vol. 3, p. 187.

(4) Voy. PFEFFER, in *Jahrbücher* de PRINGSHEIM, vol. 8, p. 538.

une de ces solutions cuivriques seront reprises à l'aide d'une fine pince au bout de quelques minutes, puis lavées superficiellement par immersion dans l'eau distillée, et placées, immédiatement après, dans une solution bouillante d'hydroxyde de potassium. Le contenu des cellules se colorera en violet à cause de la présence d'albumine.

On place une coupe faite dans un cotylédon de pois sec sur un porte-objet dans une goutte d'un mélange de 2 parties de glycérine et d'une partie d'eau. On la recouvre d'une lamelle et on porte au bord de celle-ci une goutte d'une solution iodée. Les grains d'amidon se colorent immédiatement en bleu, tandis que les grains d'aleurone et la masse fondamentale qui les englobe, prennent une coloration jaune par suite de leur teneur en substances albuminoïdes.

Les matières protéiques se colorent en rouge sous l'action du sucre et de l'acide sulfurique. Pour observer cette réaction, on portera, par exemple, des coupes provenant des cotylédons d'une graine desséchée de haricot sur un porte-objet dans une solution concentrée de saccharose, et on fera passer du bord de la lamelle à l'objet de l'acide sulfurique concentré.

Des coupes provenant d'organes végétaux riches en albumine, déposées pendant quelques minutes sur un porte-objet dans une goutte froide d'acide nitrique fumant, prennent une coloration jaune intense lorsqu'on les traite par l'ammoniaque (réaction de l'acide xanthoprotéique).

Le réactif de Millon colore les matières albuminoïdes en rouge brique. Il se prépare en traitant du mercure à froid par son poids d'acide nitrique concentré fumant et, après dissolution du métal, en étendant le liquide obtenu de son volume d'eau. Il est bon de n'employer ce réactif que fraîchement préparé. Lorsqu'on dépose des coupes de cotylédons de *Pisum* dans une goutte du réactif de Millon, qui peut être légèrement chauffé, le contenu des cellules est désorganisé; mais il se colorera cependant en rouge-brique au bout d'un certain temps par suite de la présence des matières albuminoïdes.

Dans ces derniers temps, on a étudié l'action d'un grand nombre de réactifs (surtout des dissolvants) sur les productions protoplasmiques des cellules, afin de pouvoir démontrer, en s'appuyant sur les résultats obtenus, qu'il existe toute une série de matières albuminoïdes différentes dans le protoplasme, le noyau cellulaire, etc. Il est certain, en effet, que la nucléine, par exemple, possède, comme on le verra dans le § 96, des propriétés tout à fait différentes de celles de l'albumine ordinaire; mais néanmoins, abstraction faite de ce résultat et d'un petit nombre d'autres, et alors même qu'en principe on ne peut rien objecter contre elle, la voie que nous venons d'indiquer n'a pas encore conduit jusqu'à présent à des résultats importants. C'est ainsi, par exemple, que l'on ne peut attribuer aucune valeur, au point de vue de la chimie pure, à la plupart des résultats fournis par Frank Schwarz (voy. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* de Cohn, vol. 5, cah. 1).

94. Généralités sur le rôle des albumines dans la plante.

Il a déjà été question, en un autre endroit de ce livre, des grains d'aleurone des graines. Ces grains sont riches en matières protéiques de réserve et subissent, comme les grains d'amidon, d'importantes modifications pendant la germination des graines. Les grains protéiques peuvent même se solubiliser et leur substance, être employée à la formation de productions protoplasmiques vivantes. Pour nous rendre compte de cette solubilisation, il nous suffira de laisser gonfler dans l'eau pendant 24 heures des graines de *Ricinus communis*, puis d'examiner des sections, les plus minces possible, de leur albumen. Les grains protéiques ne formeront pas des productions réfringentes, comme dans les graines en repos; leur enveloppe sera dissoute et mélangée avec la masse fondamentale en une émulsion trouble.

En broyant des graines de lupin au moyen d'un moulin, et en traitant par l'eau la poudre obtenue, il sera facile de s'assurer qu'il existe de grandes quantités d'albumine en solution dans ces matériaux d'étude. Il suffit d'ajouter au liquide porté à l'ébullition une petite quantité de potasse et une goutte de la liqueur de Fehling. Lorsqu'on traite par l'eau la poudre provenant des graines de lupin, pendant le gonflement de graines intactes, il y a toujours dissolution de conglutine. Cette matière albuminoïde est cependant insoluble dans l'eau pure. Elle est donc accompagnée de substances qui permettent la dissolution du corps protéique. A l'aide du papier de tournesol, on pourra remarquer que le liquide possède une réaction acide, assez prononcée dans certains cas. Cette réaction acide provient de la présence d'acide citrique dans certaines sortes de lupins (l'acide citrique est précisément un dissolvant de la conglutine), mais elle peut aussi avoir une autre cause. Si on met une petite quantité de conglutine dans l'eau, le liquide présente, tout au plus, une réaction légèrement acide. Si on l'additionne d'une solution de phosphate de potassium K^2HPO^4 dont la réaction est légèrement alcaline, la conglutine se dissout et sa réaction devient beaucoup plus acide qu'auparavant. La matière albuminoïde attire le potassium de K^2HPO^4 : ce qui lui permet de se dissoudre, et il se forme du phosphate acide de potassium KH^2PO^4. On sait que les graines contiennent des quantités relativement grandes d'acide phosphorique et de phosphate de potassium. Lorsqu'elles se trouveront en contact avec l'eau, il est évident, d'après ce que nous venons de voir, qu'il pourra aisément se former une solution à réaction acide fortement prononcée et renfermant cependant des quantités considérables d'albumines du groupe des caséines végétales (1).

(1) Voy. Detmer, in *Forschungen auf dem Gebiete der Agriculturphysik* de Wollny, vol. 2, cah. 4.

Il a déjà été question ailleurs (voy. § 18) d'expériences qui prouvent qu'il ne se dégage ni ammoniaque ni azote libre par suite des phénomènes chimiques de la germination des graines.

95. La pepsine et les peptones.

Les matières albuminoïdes ne sont pas en état de traverser telles quelles par osmose la membrane cellulaire ou les membranes de même nature. Il sera donc intéressant, pour la physiologie, de constater l'existence de plantes produisant des ferments capables de transformer les albumines en peptones, substances possédant un faible pouvoir diffusif.

Des ferments pepsiques (pepsine) sont sécrétés par les glandes digestives des *Drosera*. Il en existe aussi dans les sécrétions de *Nepenthes* ainsi que dans certains latex (1) (par exemple dans celui de *Carica Papaya*). Lorsqu'on n'a pas à sa disposition de papayotine, qui se trouve d'ailleurs dans le commerce, ou de latex contenant de la pepsine, on pourra étudier d'une façon générale le phénomène de la peptonisation au moyen de l'intéressante expérience que nous allons indiquer. On obtiendra facilement une solution de pepsine, en filtrant le liquide qui provient de l'action de la glycérine sur la muqueuse stomacale du porc. Lorsqu'on chauffe, sur un bain-marie à 40° C. dans une capsule en porcelaine, 500 gr. d'eau contenant 0,2 % d'acide chlorhydrique, et qu'on fait ensuite digérer pendant quelque temps 40 gr. de fibrine dans le liquide chaud, jusqu'à ce que la matière albuminoïde soit le mieux possible dissoute, l'addition de quelques gouttes de la glycérine renfermant le ferment déterminera une peptonisation presque complète et la liquéfaction de la fibrine. La fibrine (du sang de bœuf) nécessaire à cette expérience doit être retirée de la viande et peut être conservée dans la glycérine. Lorsqu'on veut employer l'albumine pour une expérience sur la digestion, on la lave soigneusement avec de l'eau et on la porte ensuite dans de l'acide chlorhydrique étendu et chaud. Si on emploie la sécrétion de *Nepenthes* ou des latex, comme liquides pepsiques, il faut veiller, au moins dans certains cas, à ce que l'acide chlorhydrique étendu, dans lequel on a dissous la fibrine, reste pendant longtemps à une température de 40° C., car souvent alors la peptonisation ne se produirait pas aussi rapidement. La présence de pepsine dans les latex se constate d'ailleurs très vite dans certains cas; j'ai pu l'observer, par exemple, en instituant l'expérience que je vais indiquer et qui est facile à répéter. Dans un tube à réactions, on porte quelques c. c. d'acide chlorhydrique très étendu, puis on y ajoute quelques petits morceaux de fibrine et on plonge alors le tube à réactions dans l'eau chauffée à

(1) Voy. surtout Hansen, *Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg*, vol. 3, cah. 2.

40° C. Après dissolution de la fibrine, on additionne le liquide de quelques gouttes du latex écoulé du pédicelle d'une figue non encore mûre. La peptonisation et la liquéfaction de la fibrine s'effectueront en peu d'instants.

Lorsque la pepsine agit sur une albumine, il se produit des phénomènes chimiques complexes. On obtient finalement, comme produits, divers genres de peptones, qui seront aisément caractérisés comme tels à l'aide de la réaction du biuret. Lorsqu'on chauffe une petite quantité d'un liquide pepsique, puis qu'on le neutralise au moyen d'hydroxyde de potassium et qu'on le traite par la liqueur de Fehling, le mélange ne prend pas de coloration violette, comme c'est le cas en présence des albumines, mais une couleur rouge-pourpre.

96. La nucléine.

Tandis que le protoplasme est particulièrement riche en matières albuminoïdes, la nucléine doit être considérée comme un principe caractéristique du noyau cellulaire. La nucléine, azotée, se distingue des matières protéiques par le phosphore qu'elle contient et par ses réactions spéciales. Sous ce rapport, il importe notamment de constater que la nucléine n'est pas attaquée par les liquides contenant de la pepsine. C'est ce que l'on pourra observer en portant sur un porte-objet un petit lambeau de l'épiderme inférieur d'une feuille de *Tradescantia* (j'ai obtenu d'excellents résultats avec le *Tradescantia virginica*), et en y ajoutant un liquide contenant de la pepsine (un mélange d'une partie en volume d'extrait glycériné de l'estomac de porc et de 2 parties en volume d'une solution à 0,2 % d'acide chlorhydrique). A la suite de cette expérience, le protoplasme est contracté et les noyaux sont devenus à peu près complètement homogènes. Les noyaux subissent alors un accroissement de volume et présentent finalement des productions jaunâtres très réfringentes qui n'éprouvent plus d'autres modifications. Lorsque les noyaux, devenus homogènes, commencent à augmenter de volume, le protoplasme contracté se boursoufle et forme des vésicules. Enfin, ces vésicules crèvent et on ne rencontre plus que des restes insignifiants de protoplasme entourant le noyau. L'acide chlorhydrique étendu n'altère plus les noyaux qui ont été traités par un liquide produisant une digestion artificielle, mais ces noyaux se dissolvent dans une solution étendue de soude (1).

97. Réaction microchimique de l'asparagine.

Je me suis efforcé de démontrer (2) que les molécules vivantes d'al-

(1) Voy. Zacharias, *Botanische Zeitung*, 1881, p. 169.
(2) Voy. Detmer, *Vergleichende Physiologie d. Keimungsprocesses der Samen*, 1880;

bumine du protoplasme ou, comme je les appelle, les éléments physiologiques donnent par dissociation, en toute circonstance et dans toute cellule en vie, des combinaisons azotées et non azotées. Ces dernières serviront à la respiration et fourniront les matériaux nécessaires à la croissance des cellules, etc., tandis que les premières s'accumuleront bientôt en quantités plus ou moins grandes dans les cellules, ou serviront à régénérer les matières protéiques avec l'aide de corps non azotés. Les produits azotés de la dissociation des éléments physiologiques du protoplasme (asparagine, glutamine, leucine, tyrosine, allantoïne) sont encore d'une grande importance à cause du rôle considérable qu'ils jouent dans le transport des aliments à l'intérieur de l'organisme végétal.

L'asparagine (amide de l'acide amidosuccinique) semble être le plus important des produits de décomposition azotés des matières albuminoïdes. C'est pourquoi nous lui consacrerons une attention spéciale et que nous chercherons d'abord de quelle manière on peut constater, par voie microchimique, sa présence dans les cellules végétales.

Si on traite une solution aqueuse concentrée d'asparagine par l'alcool absolu, l'asparagine se précipite, car elle est à peu près insoluble dans l'alcool. On peut également précipiter par l'alcool l'asparagine qui est contenue dans le suc cellulaire. Et comme les cristaux produits, appartenant au système rhomboïdal, possèdent une grandeur considérable et une forme caractéristique, il sera possible d'établir par voie microchimique l'existence de cet acide amidé dans les cellules (1).

Les coupes, comprenant plusieurs couches de cellules, afin que toutes les cellules ne soient pas ouvertes, seront déposées dans un verre de montre dans lequel se trouve de l'alcool absolu, puis agitées rapidement de côté et d'autre dans le liquide avant d'être examinées. S'il n'existe qu'une très petite quantité d'asparagine dans les cellules, il convient de placer les coupes sur le porte-objet, de les recouvrir d'alcool absolu, d'appliquer la lamelle et d'attendre qu'elles soient desséchées pour les examiner au microscope.

98. Dosage de l'asparagine.

On fait bouillir, pendant 1/4 d'heure, 100 c. c. d'eau auxquels on a ajouté 2 grammes de matières sèches provenant de germinations de *Lupinus* cultivées dans l'obscurité jusqu'à ce qu'elles aient un axe hypocotylé très allongé. On filtre la solution (si cette opération offrait quelque difficulté, on pourrait la faciliter en dirigeant de l'anhydride carbonique dans le liquide), on lave le résidu et on dilue le filtrat jus-

Jahrbücher de Pringsheim, vol. 12; *Forschungen auf d. Gebiete d. Agriculturphysik* de Wollny, vol. 5 et *Lehrbuch d. Pflanzenphysiologie*, 1883.

(1) Voy. Pfeffer, *Jahrbücher* de Pringsheim, vol. 8, p. 533, et Borodin, *Botan. Zeitung*, 1878, p. 804.

qu'à 200 c. c. Après addition de 10 c. c. d'acide chlorhydrique, 100 c. c. du liquide seront portés à l'ébullition pendant 1 heure ou 1 heure 1/2, en ayant soin de remplacer l'eau qui s'évapore; l'asparagine se dédoublera en acide aspartique et en ammoniaque; on constatera une diminution de volume. A l'aide de l'azotomètre (voy. § 91), on dosera l'azote contenu dans l'ammoniaque par la lessive bromée (préparée en dissolvant 100 grammes de soude caustique dans 1250 c. c. d'eau et en ajoutant après complet refroidissement 25 c. c. de brome). Le volume d'azote trouvé sera réduit à 0° C., sous une pression barométrique de 760 millimètres, ce qui permettra de calculer aisément la quantité en poids d'azote et, par suite, la quantité d'asparagine anhydre (C^4 H^8 O^3 N^2). Parfois les extraits provenant de germinations contiennent de petites quantités d'un corps qui, lorsqu'on le traite par la solution bromée, donne déjà de l'azote sous l'action de l'acide chlorhydrique sans qu'il soit nécessaire de le porter à l'ébullition. Il sera donc nécessaire d'agiter avec la lessive 100 c. c. de l'extrait provenant des germinations versé directement dans un azotomètre, et de retrancher la quantité d'azote trouvée alors de celle que l'on obtient lorsqu'on a fait bouillir l'extrait avec l'acide chlorhydrique (1).

99. Le rôle de l'asparagine dans les plantes.

Pour se rendre compte de la signification physiologique de l'asparagine, les germinations de *Lupinus luteus* constituent d'excellents matériaux d'étude. Pendant la germination du lupin, l'axe hypocotylé s'allonge d'une façon très considérable; les cotylédons sont soulevés à la surface du sol, se dépouillent bientôt des téguments séminaux et fonctionnent comme organes d'assimilation. La gemmule s'allonge immédiatement aussi et les premières feuilles se déploient. Dans l'axe hypocotylé se trouve un parenchyme cortical très développé, enveloppant le cercle des faisceaux libéro-ligneux et la moelle. Dans le pétiole des cotylédons, les faisceaux libéro-ligneux sont disposés suivant un croissant. Le tissu fondamental des cotylédons n'est riche en grains de chlorophylle que dans sa région périphérique. D'après les recherches microchimiques de Pfeffer, que j'ai en partie répétées, l'asparagine serait localisée de la façon que nous allons indiquer dans les germinations de *Lupinus* qui se sont développées dans des conditions normales et, par conséquent aussi, à la lumière. Les graines sont dépourvues d'asparagine. Quand la racine a atteint une longueur de 12 millimètres, et l'axe hypocotylé, de 2-4 millimètres, on trouve une petite quantité d'asparagine dans ces organes, ainsi que dans la partie inférieure des pétioles cotylédonaires. Les germinations dont les racines ont 30-

(1) Voy. Sachsse, *Die Chemie u. Physiologie d. Farbstoffe etc.*, 1877, p. 257, et Detmer, *Physiol.-chemische Untersuchungen über die Keimung etc.*, 1875, p. 74.

40 millimètres de longueur et dont les cotylédons ne sont pas encore tout à fait soulevés à la surface du sol, contiennent de l'asparagine dans leur racine; cette substance manque cependant au sommet de l'organe. Il existe de l'asparagine dans les cellules corticales de l'axe hypocotylé ainsi que dans la partie inférieure des pétioles cotylédonaires, bien que l'asparagine fasse défaut dans le limbe des cotylédons. Lorsque la germination est suffisamment avancée pour que les cotylédons soient étalés, on rencontre alors de l'asparagine dans ces organes. On trouve de l'asparagine en très grande quantité dans les pétioles cotylédonaires et surtout dans l'axe hypocotylé. Cet acide amidé ne se rencontre cependant que dans les cellules du parenchyme de ces organes, comme partout il fait complètement défaut dans les éléments des faisceaux libéro-ligneux. On peut aussi déceler la présence d'asparagine dans la gemmule en voie d'allongement, quoique les autres organes des germinations, surtout l'axe hypocotylé, soient alors de plus en plus pauvres en asparagine. Lorsque les plantes continuent à se développer dans des conditions normales de végétation, l'asparagine disparaît complètement de tous les organes, car, par suite d'une vive assimilation, il se produit des quantités si considérables de corps organiques non azotés, que les produits de décomposition, riches en azote, formés par la dissociation des éléments physiologiques, pourront bientôt être employés entièrement pour régénérer des albumines. Un fait qui mérite encore d'être pris en considération, c'est que la quantité des matières protéiques de réserve enlevée aux dépôts de matières de réserves diminue porportionnellement aux progrès de la production d'asparagine pendant la germination. Si on examine, par exemple, les cotylédons de *Lupinus* lorsque la gemmule commence à s'allonger, le contenu des cellules est déjà très éclairci, et si on traite les coupes par l'iode, on remarque que la teneur en albumine des cellules ne pourrait plus être excessivement grande (1).

Pour fournir la preuve certaine que la régénération d'albumines par l'asparagine ne peut avoir lieu que par l'intervention de corps non azotés, nous remplissons deux pots à fleurs de terre de jardin ou de sable que nous arrosons au moyen d'une solution nutritive, et nous y semons quelques graines de *Lupinus luteus*. Dans un pot, placé vis-à-vis d'une fenêtre, les plantes se développent dans des conditions tout à fait ordinaires. L'autre pot est exposé aussi à la lumière, mais dans l'appareil décrit dans le § 16, et les matériaux d'étude se développent dans une atmosphère dépourvue d'acide carbonique. Ils ne pourront donc assimiler, et par conséquent leur croissance cessera lorsqu'ils auront déployé leur seconde feuille. Dès ce moment et jusqu'à leur mort, les organes des plantules, surtout l'axe hypocotylé, contiendront de grandes quantités d'asparagine, parce qu'il ne se forme point

(1) Voy. Pfeffer, in *Jahrbücher f. wissenschaftl. Botanik* de Pringsheim, vol. 8.

des hydrates de carbone qui permettraient de régénérer des albumines. Les plantes de lupin, développées dans des conditions normales et dont la croissance se poursuit vigoureusement, ne contiennent au contraire plus d'asparagine ou seulement de petites quantités, alors que les matériaux d'étude développés en l'absence d'acide carbonique en sont très riches (1).

Lorsqu'on fait croître dans l'obscurité des germinations de *Lupinus*, les matériaux d'étude, longtemps après leur mort, sont encore riches en asparagine, car, dans ces conditions, ils manquent de matières non azotées pour la régénération de l'albumine.

II. LA RESPIRATION DES PLANTES.

100. Expériences fournissant des notions générales sur la respiration des plantes.

Nous allons d'abord faire complètement abstraction de la détermination quantitative des corps formés par le phénomène de la respiration. Nous aurons simplement pour but, ici, de nous rendre compte des diverses formes de la respiration.

Dans nos premières expériences, nous faisons usage de l'appareil que représente la figure 13, § 14, et qui nous a déjà servi pour l'étude des échanges gazeux effectués pendant le phénomène de l'assimilation. Nous portons 3 grammes environ de grains de froment gonflés dans la partie supérieure, élargie, d'un eudiomètre ; puis nous introduisons dans l'appareil une petite quantité de laine de verre, afin d'empêcher les graines de tomber, et nous plongeons la partie inférieure du tube dans le mercure. Nous faisons alors passer dans le tube une petite quantité d'eau au-dessus du mercure, identiquement de la même façon que celle qui a été indiquée dans le § 13 ; nous élevons quelque peu le mercure et fermons l'appareil. Le niveau du mercure dans le tube n'aura pas subi de modification sensible au bout d'un jour ou deux, si la température est restée aussi constante que possible et si la pression atmosphérique n'a pas éprouvé de variations considérables. Les grains de froment germeront, et il sera facile de démontrer que cette manifestation vitale des matériaux d'étude est liée à la respiration. Lorsque les plantules auront séjourné pendant deux jours environ dans l'appareil, nous ferons monter un petit morceau de potasse caustique au-dessus du mercure. Cette substance se dissoudra naturellement dans l'eau qui surmonte le mercure, et on cons-

(1) Voy. PFEFFER, *Botanische Zeitung*, 1874, p. 249.

tatera immédiatement une ascension du mercure dans le tube. L'alcali aura absorbé l'acide carbonique produit par la respiration des germinations. L'ascension du mercure devra nécessairement provenir de ce que les matériaux d'étude ont absorbé l'oxygène de l'air qui les entoure dans l'appareil, et l'ont employé à oxyder certains éléments constituants des cellules. On dit que les plantes entretiennent une respiration normale, lorsqu'elles absorbent de l'oxygène et dégagent de l'acide carbonique.

Nous laisserons ensuite gonfler 2 grammes de grains de froment et 2 grammes de semences de chanvre, puis nous placerons ces matériaux d'étude dans deux eudiomètres dont nous plongerons la partie inférieure, tubulée, dans du mercure. Après avoir fermé les appareils à leur partie supérieure, nous les placerons l'un à côté de l'autre et nous constaterons, après un jour ou deux, si la température est restée aussi uniforme que possible, que le niveau du liquide dans l'appareil contenant les germinations de froment n'aura pas éprouvé de variation sensible, et que le niveau du liquide s'est considérablement élevé dans le tube de l'autre appareil. Les germinations de froment n'entretiennent qu'une respiration normale; elles prennent de l'oxygène et expirent une quantité proportionnelle d'acide carbonique. Les germinations de chanvre produisent évidemment aussi de l'acide carbonique aux dépens de l'oxygène absorbé, cependant une quantité d'oxygène qui n'est point négligeable n'est pas employée chez elles à produire de l'acide carbonique, mais à transformer des matières organiques peu oxygénées (graisses) en d'autres, riches en oxygène (hydrates de carbone). Les germinations de chanvre — les plantules qui ont surtout des graisses à leur disposition, comme matières de réserve non azotées, se comportent en général d'une façon analogue — n'entretiennent, par conséquent, pas seulement une respiration normale, mais en outre une respiration d'une autre forme que j'ai appelée respiration de vinculation (absorption d'oxygène sans un dégagement proportionnel d'acide carbonique).

L'eudiomètre dans lequel nous avons introduit les graines de froment nous servira encore pour d'autres observations. Nous abandonnerons l'appareil pendant quelques jours sans l'ouvrir. Nous remarquerons que le liquide descend de plus en plus dans le tube, alors même que la température reste fort constante, et qu'il s'échappe au bout de quelque temps des bulles de gaz de l'appareil. Ce phénomène s'explique par une persistance de la respiration des germinations, après qu'elles ont employé l'oxygène du volume limité d'air dans lequel elles se trouvent. L'augmentation que l'on observera dans le volume de l'air prouve précisément qu'elles produisent encore de l'anydride carbonique, et la matière organique des cellules végétales ne proviendra pas seulement du carbone, mais encore de l'oxygène de cet acide carbonique. Nous avons donc affaire ici à une autre forme

encore de la respiration, à la respiration intérieure, qui se produit lorsque les organes végétaux se trouvent dans un espace vide d'oxygène.

Enfin, il sera nécessaire, dans les leçons de physiologie végétale, d'effectuer l'expérience que nous allons indiquer, pour démontrer que la respiration normale des plantes est liée à une expiration d'anhydride carbonique.

A l'aide d'un aspirateur, nous ferons passer de l'air sur une grande quantité de germinations, de fleurs ou d'autres matériaux d'étude placés dans un ballon. Ce dernier sera fermé au moyen d'un bouchon en caoutchouc percé de deux ouvertures. Une de ces ouvertures laissera pénétrer l'air dans le ballon; dans l'autre, on introduira le tube en verre destiné à la sortie de l'air. Avant d'entrer dans le ballon, l'air traversera un large tube de verre courbé en U, contenant des fragments de pierre-ponce mouillés d'une lessive de potasse, ainsi qu'un vase cylindrique en verre à demi rempli d'une eau de baryte limpide. L'air sera ainsi débarrassé de son anhydride carbonique, et l'eau de baryte aura pour objet de fournir la preuve que l'air est complètement dépourvu de son anhydride carbonique. Après avoir traversé le ballon, l'air passera dans un vase cylindrique de verre contenant aussi de l'eau de baryte claire. Cette dernière se troublera très rapidement, car elle absorbera l'acide carbonique produit par la respiration des plantes. Dans cette expérience, il suffira d'employer, comme aspirateur, un grand flacon rempli d'eau, dont le bouchon, percé de deux orifices, est traversé par deux tubes de verre. L'un de ces tubes débouchera immédiatement au-dessous du bouchon et sera relié au cylindre de verre contenant l'eau de baryte, qui sert à l'absorption de l'anhydride carbonique produit par les plantes. Une des branches de l'autre tube de verre atteindra le fond de l'aspirateur rempli d'eau. La seconde branche, légèrement plus grande que la première, sera étirée en pointe à son extrémité libre. Si on aspire, ce dernier tube de verre servira de siphon. L'eau s'écoulera de l'aspirateur d'une façon continue et tout l'appareil sera traversé par un courant d'air.

101. Méthode employée pour déterminer la quantité d'anhydride carbonique expirée par les plantes dans la respiration normale.

Pour déterminer, avec précision et dans des conditions rappelant le plus possible celles de la vie normale, les quantités d'acide carbonique dégagées par la respiration normale des plantes ou des organes végétaux, il conviendra de diriger sur les matériaux d'étude un courant d'air continu débarrassé de son anhydride carbonique, et d'établir le poids d'acide carbonique de l'air qui s'est trouvé en contact avec les plantes.

Avant qu'il ne pénètre dans l'appareil, on débarrassera l'air de son acide carbonique en lui faisant d'abord traverser quelques tubes de verre remplis de morceaux de potasse solide ou de morceaux de pierre-ponce mouillés à l'aide d'une lessive de potasse. Et afin que l'air soit de nouveau humide, on le dirigera ensuite à travers un flacon rempli de petits morceaux de pierre-ponce passés au feu et mouillés d'eau. On le fera alors entrer dans le milieu qui contient les matériaux d'étude, soit directement, soit après avoir d'abord traversé un vase renfermant une eau de baryte limpide; ce qui permettra de constater avec certitude que l'air ne possède plus d'acide carbonique. Il faudra naturellement s'attacher à obtenir une fermeture empêchant d'une façon absolue l'accès de l'air dans les tubes contenant la potasse, et il conviendra d'enduire les bouchons de cire à cacheter.

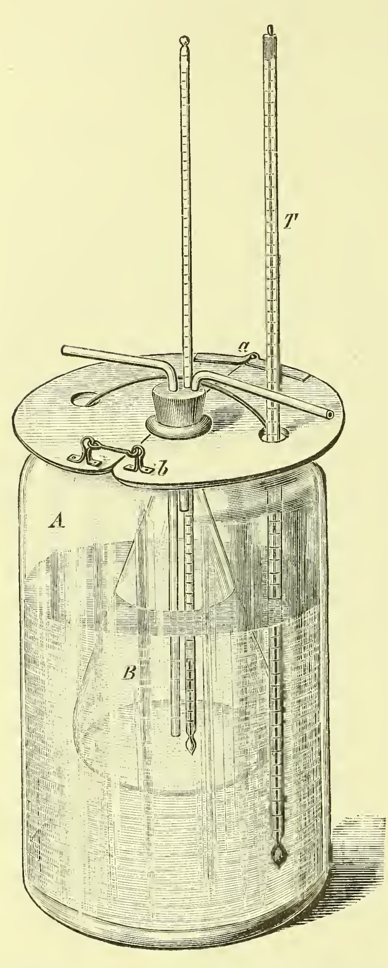


Fig. 74. — Ballon (B) pour les recherches sur la respiration, suspendu dans le vase A servant de thermostat.

On remarquera, pour ce qui concerne le récipient dans lequel la respiration s'effectue, c'est-à-dire la partie de l'appareil dans laquelle se trouvent les plantes soumises à l'expérimentation, qu'on peut lui donner diverses dispositions. Si les recherches sur la respiration doivent être de longue durée et si, par exemple, un courant d'air continu doit être dirigé pendant plusieurs jours sur les graines en germination, on fera usage de l'appareil que représente la fig. 16 et qui nous a servi lorsqu'il s'est agi de chercher l'importance de l'azote libre de l'air pour les plantes. Les graines, au préalable pesées, gonfleront dans un petit vase placé sous la cloche, puis elles germeront ensuite sous la cloche sur de la laine de verre mouillée. Elles seront alors déposées sur le tulle ou sur tout autre corps recouvrant le vase de culture placé sous la cloche. Lorsque les expériences étaient de courte durée, c'est-à-dire lorsqu'il s'agissait d'expériences de quelques heures seulement, j'ai obtenu de bons résultats en employant l'appareil que représente la fig. 74. Le milieu respiratoire est représenté par le ballon B, dont la capacité

varie, suivant les cas, entre 200 et 600 c. c. Ce ballon est suspendu dans un grand vase A rempli d'eau et servant de thermostat. La figure montre comment on peut le suspendre, au moyen d'un couvercle muni d'une charnière *a* et d'une fermeture à crochet *b*. Le couvercle, en zinc, possède trois ouvertures. Celle du centre sert à recevoir le col du ballon. Dans les deux latérales pénètrent les extrémités d'un fil de fer plié destiné à repousser le ballon dans l'eau du thermostat. Pendant les expériences, on pourra, si c'est nécessaire, introduire dans le thermostat, par l'une des ouvertures latérales, des morceaux de glace ou des quantités suffisantes d'eau chaude ou d'eau froide pour que la température de l'eau reste constante. Dans l'autre ouverture latérale, on glissera un thermomètre T. Lorsque les

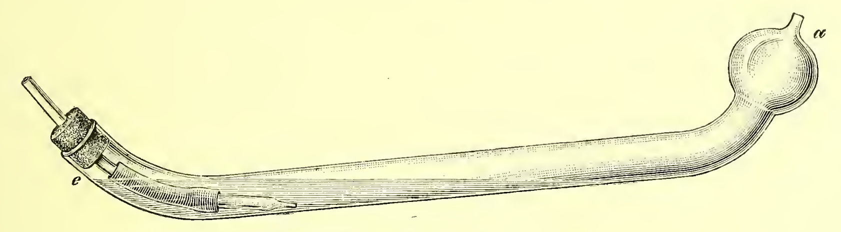


Fig. 75. — Tube à baryte de Pettenkofer.

expériences doivent être effectuées dans l'obscurité, on place l'appareil sous un cylindre de carton sur lequel on applique des draps noirs. Le ballon B est fermé au moyen d'un bouchon en caoutchouc percé de trois orifices. L'un reçoit un thermomètre; l'air débarrassé d'acide carbonique pénètre par le second au moyen d'un tube en verre, et un tube en verre passant par le troisième conduit au dehors l'acide carbonique produit par les matériaux d'étude. On peut employer d'ailleurs cet appareil pour des expériences de longue durée sur la respiration (par exemple de plusieurs jours). Lorsqu'il s'agit de déterminer les quantités d'acide carbonique dégagées par les graines pendant leur évolution depuis le début de leur germination, on portera les matériaux d'étude, gonflés, dans le ballon, après avoir recouvert le fond de celui-ci avec de l'ouate humide, de la laine de verre mouillée ou plusieurs couches de papier à filtrer mouillées. On dirigera alors un courant d'air continu à travers l'appareil et on déterminera, à peu près toutes les 24 heures, la quantité d'acide carbonique produit.

Pour doser l'acide carbonique, il convient d'employer de l'eau de baryte dans des tubes à baryte de Pettenkofer (voy. fig. 75). L'air qui s'échappe du milieu dans lequel la respiration s'effectue pénètre en *e* dans le tube à baryte, traverse l'eau de baryte et sort du tube en *a*. Afin de prévenir toute perte d'acide carbonique, il est bon de faire usage de deux tubes à baryte. Le premier sera mis en communica-

tion avec le second, au moyen d'un tube en caoutchouc fixé en *a*. L'eau de baryte se prépare en versant 5 litres d'eau distillée sur 105 gr. d'hydrate de baryum auxquels on a ajouté 15 gr. de chlorure de baryum. Le mélange, fréquemment agité, restera pendant 24 heures dans un vase fermé. Puis, on le laissera reposer jusqu'à ce qu'il y ait formation d'un dépôt, et on soutirera la solution claire pour la porter dans un flacon de Wulf à deux tubulures supérieures et une tubulure inférieure. L'eau de baryte pourra s'écouler par cette dernière tubulure dans une burette, et l'air qu'elle déplacera dans la burette sera conduit, à l'aide d'un tuyau, de la partie supérieure de la burette à l'une des tubulures du flacon de Wulf. La seconde tubulure servira à faire pénétrer de l'air débarrassé de son anhydride carbonique par une lessive de potasse lorsqu'on laissera sortir l'eau de baryte de la burette. Les tubes à baryte seront remplis directement d'eau de baryte claire de la burette, et on emploiera, par exemple, pour chaque tube 100 c. c. de ce liquide. Lorsque les expériences sur la respiration auront une durée de plusieurs jours, le tube, dans lequel l'air pénètre immédiatement à sa sortie du milieu où la respiration s'effectue, sera remplacé, suivant les cas, toutes les 12 ou 24 heures, par un nouveau, fraîchement rempli. Quant au second, il ne sera enlevé et remplacé que lorsqu'il contiendra une forte quantité de carbonate de baryum. L'eau de baryte sera versée dans des vases convenables, fermés hermétiquement; puis laissée en repos jusqu'à ce que le carbonate de baryum se soit complètement déposé et que le liquide soit tout à fait limpide. Au moyen d'une pipette, on prélèvera 20 ou 30 c. c. de ce liquide clair qui serviront au titrage et on répètera cette opération avec 20 ou 30 c. c. de l'eau de baryte primitive. Dans un litre d'eau, on dissoudra 2,8636 gr. d'acide oxalique pur, exactement pesés. On laissera tomber d'une burette une quantité suffisante de cette solution d'acide oxalique dans l'eau de baryte, mélangée d'une légère quantité d'une solution d'acide rosolique, pour neutraliser le liquide. Comme 1000 c. c. de la solution d'acide oxalique correspondent exactement à 1 gr. d'anhydride carbonique, 1,0 c. c. correspondra à 0,001 gr. de CO^2, et 0,1 c. c. à 0,1 milligramme de CO^2.

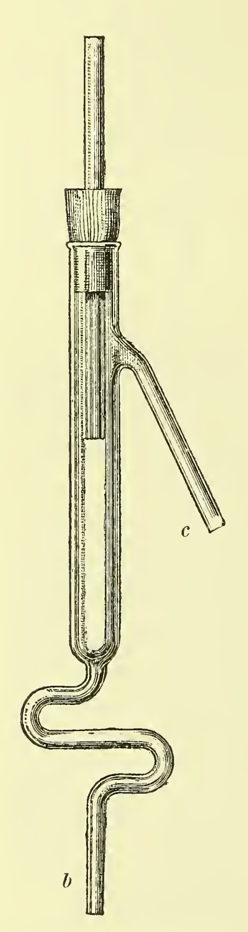


Fig. 76. — Aspirateur, au 1/3 de sa grandeur naturelle.

Pour diriger un courant d'air dans l'appareil, l'extrémité sphérique

du second tube à baryte sera mis en communication, au moyen d'un tube en verre et de morceaux de tuyau en caoutchouc, avec l'ouverture *c* d'un aspirateur à gouttes, en verre, comme celui que représente la fig. 76. L'eau nécessaire est fournie à l'appareil par un réservoir, placé au-dessus, ou par une conduite, et le courant d'eau est régularisé, au moyen d'un robinet, de telle façon que 2 ou 3 litres d'eau, selon les circonstances, pénètrent par heure dans l'appareil. Un long tube de verre relié en *b* à l'aspirateur servira à l'écoulement de l'eau. Le courant d'air pourra être mesuré par la quantité d'eau qui aura traversé l'aspirateur ou bien contrôlé par l'intercalation d'un compteur à gaz. Dans des recherches comparatives sur la respiration végétale, il importera beaucoup de s'assurer de la régularité du courant d'air qui traverse l'appareil.

En employant l'appareil décrit, on pourra doser, d'une autre manière encore que celle qui vient d'être indiquée, la quantité d'anhydride carbonique produite par les matériaux d'étude. J'ai obtenu, notamment, de bons résultats à l'aide du procédé qui va suivre. L'air qui provient de l'espace où s'effectue la respiration traverse quelques grands tubes remplis de chlorure de calcium, afin d'être complètement débarrassé de son humidité; puis il passe dans un appareil à potasse de Liebig et, de nouveau, dans deux tubes à chlorure de calcium. Ces deux tubes et l'appareil à potasse de Liebig seront pesés au début et à la fin des expériences, pour qu'il soit possible de déterminer la quantité d'anhydride carbonique produite. J'intercalais encore un tube à chlorure de calcium et un petit tube de verre contenant des morceaux de potasse caustique entre l'aspirateur et le second des deux tubes à chlorure de calcium, de manière qu'il ne puisse passer ni de la vapeur d'eau ni de l'anhydride carbonique de l'aspirateur à l'appareil.

Lorsque les recherches devront être de longue durée, il conviendra de fixer l'anhydride carbonique par l'eau de baryte et de titrer cette dernière. Si on n'a pas à sa disposition des tubes de Pettenkofer, on pourra les remplacer par de simples cylindres de verre remplis d'eau de baryte.

Les erreurs d'observation que l'on ne peut éviter sont de très peu d'importance dans la méthode que nous venons d'employer pour la détermination de l'anhydride carbonique. On trouvera d'autres détails dans le travail de Sachsse, indiqué au bas de la page, ainsi que dans le mien. Ces erreurs d'observation influent sur le résultat des déterminations d'anhydride carbonique, en partie dans un sens, en partie en sens contraire; comme il y a à peu près compensation, il est à peine nécessaire d'en tenir compte (1).

(1) Bibliographie : SACHS, *Handbuch der Experimentalphysiologie d. Pflanzen*, 1865, p. 171; SACHSSE, *Ueber einige Vorgänge bei der Keimung von Pisum sativum*, Leipsick,

102. Recherches expérimentales sur la formation d'anhydride carbonique pendant la respiration normale des plantes.

Lorsqu'il s'agira, à l'aide de l'appareil décrit dans le § 101, de déterminer l'intensité de la respiration de certains matériaux d'étude dans des conditions différentes, il sera toujours indispensable, avant d'entreprendre les recherches proprement dites, dans des études comparatives de ce genre, de diriger de l'air dans l'appareil pendant quelque temps, sans doser l'acide carbonique formé par les plantes qui se trouvent dans le milieu où s'effectue la respiration. Il faudra, avant de pouvoir commencer les dosages d'anhydride carbonique, que l'air possède dans le milieu où la respiration doit s'effectuer une composition en rapport avec les conditions extérieures.

On porte, par exemple, 60 germinations de *Pisum sativum* ou d'une autre plante dans le ballon, puis on dirige un courant d'air pendant deux heures dans l'appareil avant d'intercaler les tubes de baryte, pour établir alors la quantité d'anhydride carbonique produite pendant une heure ou deux par les matériaux d'étude.

Dans les recherches sur l'influence directe de l'éclairage sur le cours de la respiration chez les plantes, il faudra veiller avec soin à ce que les matériaux d'étude soient toujours exposés à une température constante, ce qui sera facile à l'aide du thermostat. En employant par exemple, comme matériaux d'étude : des fructifications de *Cantharellus*, des fleurs dépourvues de toutes leurs parties vertes, etc., j'ai trouvé, dans des recherches faites à la fois dans l'obscurité et à la lumière diffuse, que la lumière n'exerce en général aucune influence sur l'énergie respiratoire des organes végétaux. Seuls, certains matériaux d'étude produisaient plus d'anhydride carbonique à la lumière que dans l'obscurité. Il faudra naturellement faire passer alors aussi un courant d'air dans l'appareil longtemps avant d'entreprendre chaque expérience (1).

Les conditions d'éclairage exercent une influence indirecte considérable sur l'énergie respiratoire des organes verts des plantes. On place dans le ballon un rameau feuillé de *Crataegus* en voie de croissance active, et on dirige pendant 12 à 20 heures un courant d'air constant dans l'appareil en soustrayant le rameau à l'action de la lumière. Toutes les quatre heures, on remplacera les tubes à baryte, et on déterminera, dans le liquide d'absorption des tubes que l'on aura retirés, la quantité d'acide carbonique produite. On observera que l'énergie respiratoire des organes verts diminue d'une façon de plus en plus considé-

1872 ; DETMER, *Physiologische Untersuchungen über die Keimung ölhaltiger Samen etc.*, Iéna, 1875 ; DETMER, *Sitzungsberichte d. Jenaischen Gesellschaft für Medicin und Naturwissenschaft*, année 1881.

(1) Voy. DETMER, *Sitzungsberichte d. med.-naturwissenschl. Gesellschaft zu Jéna*, 1881.

rable. Lorsqe l'énergie respiratoire sera fort diminuée, le thermostat dans lequel le ballon est suspendu sera exposé pendant quelque temps (6 heures environ) à l'action de la lumière solaire directe. Pour que la pousse puisse assimiler dans le ballon, on fera passer à travers l'appareil une légère quantité d'anhydride carbonique, puis on reprendra les expériences sur la respiration. Il faut évidemment diriger d'abord dans l'appareil, pendant deux heures environ, un courant d'air débarrassé de son anhydride carbonique sans placer de tubes à baryte, et veiller à ce que les matériaux d'étude soient exposés pendant les expériences aux mêmes conditions de température que celles qui existaient avant l'insolation. On trouvera que l'énergie de la respiration du rameau de *Crataegus* augmentera sous l'action du soleil. Les feuilles auront assimilé sous l'influence de la lumière, et il y aura ainsi production de matériaux nouveaux qui pourront être utilisés pour la respiration (1).

Nous pourrons aussi, à l'aide de notre appareil, effectuer des recherches sur la relation qui existe entre la température et l'énergie de la respiration, ou bien encore établir l'énergie respiratoire spécifique d'organes végétaux différents, c'est-à-dire évaluer la quantité d'anhydride carbonique produite par des poids égaux d'organes végétaux différents à la même température et pendant le même temps. Pour cela, nous porterons dans le ballon de l'appareil que représente la fig. 74, une quantité, pas trop petite, des matériaux d'étude et nous calculerons la quantité d'anhydride carbonique qu'ils expireront pendant 2 à 4 heures. J'ai trouvé que les organes végétaux complètement développés, désignés plus bas, produisaient, en une heure, sur 100 gr. de matière vivante et à peu près sous la même température (19°5 c.), les quantités d'anhydride carbonique indiquées ci-dessous :

Organes végétaux :	Anhydride carbonique en gr.
Fleurs de *Salvia pratensis*	0,044
Pièces florales de *Rosa*	0,040
Feuilles de *Calendula officinalis*	0,034
Fructifications de *Cantharellus cibarius*	0,027
Hampes florales de *Monotropa Hypopitys*	0,012

Si on place 50 grains de froment dans le ballon de l'appareil représenté par la fig. 74, de manière qu'ils puissent germer sur du papier à filtrer mouillé, et si on dirige pendant plusieurs jours un courant d'air continu dans tout l'appareil, on constate, par des dosages de l'anhydride carbonique effectués toutes les 24 heures, que la quantité d'anhydride carbonique expirée pendant chaque unité de temps (24 heures) est d'abord relativement minime, qu'elle augmente avec les progrès de la germination et qu'elle diminue enfin de nouveau vers la fin de la germination.

(1) Voy. Borodin, *Mémoires de l'Académie impér. de St-Pétersbourg*, 7e série, t. 28, n° 4.

103. Recherche de l'absorption d'oxygène et de la production d'anhydride carbonique pendant la respiration normale.

Il y a longtemps déjà que j'ai pu mesurer l'énergie de l'absorption d'oxygène pendant la respiration à l'aide d'un appareil très semblable à celui que représente la fig. 77 (1). La méthode a subi récemment divers perfectionnements, et elle a été de telle sorte améliorée, notamment par Godlewski (2), que l'on peut facilement établir, en même temps que l'inspiration d'oxygène des matériaux d'étude, leur expiration d'anhydride carbonique. L'appareil nécessaire est représenté par la fig. 77. Il consiste en un ballon de verre A d'une capacité de 400 à 500 c. c., dont le volume a été exactement mesuré, au moyen d'une burette, jusqu'au trait *a*. Les matériaux d'étude (graines, germinations ou organes végétaux quelconques) seront placés dans le ballon sur du papier à filtrer humide ou sur du coton mouillé. Ce ballon sera fermé au moyen d'un bouchon en caoutchouc percé de deux ouvertures. Les meilleurs bouchons de caoutchouc sont les bouchons rouges que fournit la maison Wallach de Cassel. Dans une des ouvertures, on introduit le tube de verre *b*, dont la partie inférieure est fermée à la lampe. L'autre reçoit le tube de verre *c*, dont la longue branche plonge dans du mercure recouvert d'une couche d'eau de quelques millimètres.

La longue branche *c* doit être calibrée et pourvue d'une échelle divisée en millimètres. Au tube de verre *b* est suspendu par un crochet un petit vase (*g*) avec une lessive concentrée de potasse, au préalable pesée. Pour obtenir sans peine une fermeture absolument hermétique, on enfonce le bouchon de caoutchouc dans le col du ballon, de telle sorte que le col dépasse le bouchon. Dans l'espace compris au-dessus du bouchon, on versera une couche de mercure de 7 millimètres environ de hauteur. Pour déterminer exactement le volume de l'air renfermé dans le ballon avec les matériaux d'étude, on devra additionner au volume du ballon A, celui du tube *c* jusqu'au niveau du mercure et en retrancher, au contraire, le volume de tous les objets se trouvant dans l'appareil. Le volume d'air ainsi corrigé sera enfin ramené, à l'aide de la formule indiquée dans le § 13, à une pression mercurielle d'un mètre, à 0° de température et à l'état sec. Il faut encore remarquer que la lecture du niveau du mercure dans le tube de verre *c*, au début de l'expérience, ne pourra être effectuée avec précision que lorsque le niveau du mercure dans le tube sera plus élevé que dans le vase où pénètre sa longue branche; ce qu'il est facile

(1) Voy. Detmer, *Physiologisch-chem. Untersuchungen über die Keimung*, 1875, p. 31.
(2) Voy. Godlewski, *Jahrbücher* de Pringsheim, vol. 13, cah. 3.

d'obtenir en chauffant le ballon à l'aide de la main avant de plonger le tube *c* dans le mercure. De plus, les lectures nécessaires ne devront pas être faites dès que l'appareil sera construit, mais seulement au bout de quelque temps (20 minutes environ) pour que les températures se soient convenablement égalisées.

Lorsque les plantes respireront et emploieront de l'oxygène, le mercure s'élèvera dans le tube *c*. La quantité d'oxygène inspirée peut être déduite de la diminution correspondante de l'air dans l'appareil. La lessive de potasse dans le tube *g* absorbe de son côté l'acide carbonique produit, dont on déterminera la quantité en versant cette lessive dans un petit ballon, puis en la diluant et en ajoutant au liquide du chlorure de baryum. Le précipité de carbonate de baryum, recueilli sur un filtre, sera lavé d'abord avec de l'eau saturée de carbonate de baryum, ensuite avec de l'eau distillée, puis desséché, incinéré et pesé. Comme la lessive de potasse qui se trouvait au début de l'expérience dans l'appareil n'est jamais complètement dépourvue d'anhydride carbonique, il faudra aussi déterminer cette quantité d'acide et la décompter de la quantité trouvée en mesurant l'anhydride carbonique produit par la respiration. Enfin, la quantité d'anhydride carbonique que l'on déduit du poids de carbonate de baryum doit être ramenée à 0° C. et sous une pression barométrique d'un mètre. Godlewski, dans l'ouvrage que nous avons cité, a aussi fait remarquer les sources d'erreurs de la méthode qui vient d'être recommandée.

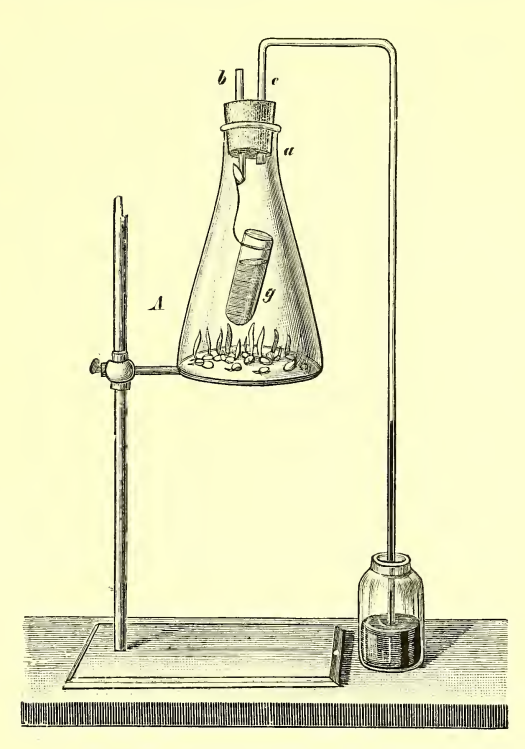


Fig. 77. — Appareil pour les expériences sur la respiration.

Lorsqu'il s'agira d'examiner l'intensité du dégagement d'anhydride carbonique et de l'absorption d'oxygène des organes végétaux pendant une longue durée de temps, il sera nécessaire d'enlever périodiquement, au bout de 2 heures, par exemple, la lessive de potasse et de la remplacer par une nouvelle afin que l'anhydride carbonique produit soit toujours complètement absorbé. Il est particulièrement

commode d'employer des graines en germination comme matériaux d'étude. Les graines seront déposées dans le ballon, à l'état sec et après avoir été exactement pesées, sur du papier à filtrer humide ou de l'ouate mouillée. Elles ne tarderont pas à gonfler, puis à germer. Dans beaucoup de cas, surtout lorsqu'on expérimentera sur des graines relativement grandes (*Pisum*, *Phaseolus*), il sera bon aussi de faire gonfler pendant 24 heures les matériaux d'étude avant de les porter dans l'appareil. Dans les expériences sur le phénomène de la respiration chez les graines oléagineuses (*Brassica*, *Linum*, *Cannabis*), on fera usage d'un appareil possédant les dimensions indiquées plus haut pour des graines dont le poids total est de 1 gr. à 1 gr. 5. Lorsqu'on expérimentera sur le froment, on pourra employer 2 gr. 3 de matériaux d'étude, et même 5 gr. avec le *Pisum*. On constatera, notamment, que les graines riches en amidon produisent pendant la germination une quantité d'anhydride carbonique à peu près équivalente en volume à la quantité d'oxygène absorbée; dans ce cas, le rapport $\frac{CO^2}{O}$ est par conséquent à peu près égal à 1. Pendant la germination des graines oléagineuses, l'absorption d'oxygène, surtout à un stade moyen de la germination, est parfois beaucoup supérieur au dégagement d'anhydride carbonique; chez les *Cannabis*, par exemple, le rapport $\frac{CO^2}{O}$ peut être égal à 0,6. Mais pendant la germination des graines riches en graisses, il y a formation d'hydrates de carbone, par conséquent de combinaisons très oxygénées, aux dépens des graisses qui sont des substances peu oxygénées, et cette circonstance aura pour effet d'augmenter la consommation d'oxygène.

104. Recherches d'analyse élémentaire sur le phénomène de la respiration.

Pour résoudre diverses questions qui se rattachent à la respiration des plantes, il est nécessaire d'établir, au début et à la fin des expériences, les quantités de carbone, d'hydrogène et d'oxygène qui se trouvent dans les matériaux d'étude. Si on détermine, par exemple, le poids de ces éléments dans 100 gr. de graines ainsi que dans les germinations provenant, au bout d'un temps déterminé, de ces 100 gr. de graines, on obtiendra des nombres dont la comparaison permettra immédiatement de mesurer les quantités de carbone, d'hydrogène, etc., employées par la respiration. Les recherches d'analyse élémentaire possèdent encore une importance spéciale lorsqu'il s'agit, par exemple, de savoir si la masse totale de carbone perdue par les graines en germination se dégage sous forme d'anhydride carbonique, ou s'il se produit aussi d'autres gaz carbonés (oxyde de carbone, hydrures de carbone) pendant la germination. Dans des expériences de ce genre, on comparera les résultats

fournis par le dosage direct de l'anhydride carbonique, fait à l'aide de la méthode indiquée dans le § 101, avec ceux que donnent les analyses élémentaires. Si l'on observe une concordance suffisante entre les nombres que fournissent les recherches effectuées sur la perte de carbone éprouvée pendant la germination et ceux que donne l'analyse élémentaire concernant cette perte de carbone, on sera autorisé à conclure que tout le carbone des graines en germination se combine avec de l'oxygène pour se dégager à l'état d'anhydride carbonique. Il faudra recourir aux travaux, cités au bas de la page, pour ce qui concerne divers détails de la méthode expérimentale. Je me bornerai à faire encore remarquer au sujet des analyses élémentaires, qui exigent d'ailleurs beaucoup de pratique, que la substance des graines et des germinations devra être incinérée, après avoir été mélangée avec du chromate de plomb, pour le dosage du chlore et du soufre des matériaux d'étude, et que l'on se servira de cuivre métallique (tournure de cuivre) pour celui de l'azote. L'incinération, elle-même, se fera de préférence dans un courant d'oxygène (1).

105. La respiration intramoléculaire des plantes.

Le phénomène de la respiration intramoléculaire se manifeste lorsqu'on soustrait les plantes à l'action de l'oxygène, en les portant, par exemple, dans le vide ou dans l'hydrogène.

On effectuera, de la manière qui va être indiquée, les expériences dans le vide que j'ai faites sur les germinations de *Pisum*, par exemple, d'après la méthode de Wortmann (2). Un tube en verre, à parois épaisses, de 100 centimètres de longueur et 1,5 centim. de diamètre, fermé à la lampe à une de ses extrémités, est rempli de mercure purifié, complètement sec. On purifiera le mercure en dirigeant sur lui un mince filet d'une solution aqueuse de chlorure de fer, suffisamment étendue pour posséder la coloration d'une bière claire. Cette solution sera enlevée après quelque temps et, lorsque cela sera nécessaire, remplacée par une autre; puis, enfin, le mercure sera lavé à l'eau. Celle-ci sera enlevée également et le mercure, pour être complètement desséché, sera versé dans un vase ouvert placé dans un endroit chauffé. Puis le mercure traversera lentement un cornet de papier à filtrer et sera déposé de nouveau dans un endroit chauffé. Pendant le remplissage du tube, on évitera le mieux l'adhérence de bulles d'air aux parois, en laissant couler le mercure, au moyen d'un entonnoir terminé par une pointe assez fine, dans un mince tube de verre qui atteint le fond du tube à remplir. Lorsque ce dernier tube sera rempli,

(1) Voy. Sachsse, *Ueber einige chemische Vorgänge bei der Keimung von Pisum sativum*, Leipsick, 1872; Detmer, *Physiologische Untersuchungen über die Keimung ölhaltiger Samen etc.*, Iéna, 1875.

(2) Voy. Wortmann, *Arbeiten d. botanischen Instituts in Würzburg*, vol. 2.

son ouverture sera fermée, et l'appareil, retourné sur un vase partiellement rempli de mercure. On aura donc ainsi un baromètre avec une chambre barométrique assez grande. Sur le mercure du tube barométrique, on fera monter ensuite quelques germinations débarrassées de leurs téguments séminaux, qui se sont développées sur de la sciure humide et qui ont été desséchées au moyen de papier à filtrer. Et pour les maintenir humides pendant la durée des recherches, on fera monter aussi une petite boule de papier à filtrer trempée dans de l'eau bouillie. Dans les expériences sur le *Pisum sativum* ou le *Vicia Faba*, on emploiera 6-10 germinations; lorsqu'on expérimentera sur des germinations d'un poids moindre, on fera usage d'un nombre proportionnellement plus grand de germinations. Quand le mercure sera en repos, après l'introduction des matériaux d'étude, on procédera immédiatement à la détermination de l'heure, de la température, de la hauteur du baromètre ainsi que de la hauteur de la colonne mercurielle (le niveau supérieur et le niveau inférieur, c'est-à-dire l'endroit où s'effectue le contact du tube barométrique avec le mercure contenu dans le vase plat en verre). Lorsqu'on travaillera avec des tubes barométriques non calibrés, on fixera aux niveaux supérieur et inférieur de la colonne mercurielle des marques en papier que l'on renouvellera à chaque lecture, et on mesurera les hauteurs fixées. On déterminera ensuite les volumes qui leur correspondent en laissant couler du mercure d'une burette jusqu'aux divers volumes indiqués par les marques. Tous ces volumes seront ramenés à 0°C, et 1000 millimètres de mercure.

Au début de l'expérience, soient :

Vo, le volume,
h, la hauteur du mercure dans le tube barométrique,
t, la température et
b, la hauteur barométrique;

si on représente ensuite par

ts, la tension, proportionnelle à la température, de la vapeur d'eau sur le mercure du tube et par
a, le coefficient de dilatation de l'air,

le volume devient après réduction :

$$V = \frac{b - (h + ts)}{1000} \cdot \frac{Vo}{(1 + a.\ t)}.$$

Si V est le volume au début de l'expérience et V', le volume après 6 heures environ, V' — V sera, par conséquent, la quantité d'anhydride carbonique qui s'est dégagée pendant ce temps. Comme le volume primitif dans le vide était égal à zéro, V' désignera directement la quantité d'anhydride carbonique dégagée.

Il est parfois utile de pouvoir comparer l'énergie de la respiration intramoléculaire avec celle de la respiration normale. Pour cela, on placera, à côté du tube barométrique, un second tube de verre de mêmes dimensions dans lequel on aura introduit des germinations possédant autant que possible le même poids et le même degré de développement que celles qui se trouvent dans le vide. On glissera un petit bouchon au-dessous des matériaux d'étude pour les empêcher de tomber. Le tube de verre plongera dans le mercure par sa partie inférieure ouverte, et on retirera du tube, par aspiration, à peu près 20 c. c. d'air atmosphérique. Il est clair que le mercure s'élèvera dans le tube de la même quantité (voy. fig. 78). Pour enlever une partie de l'air du tube, on chauffera un ballon en verre fermé au moyen d'un bouchon de caoutchouc dans l'ouverture duquel on a placé un tube de verre recourbé, portant un tuyau de caoutchouc; puis on fermera ce tuyau à l'aide d'une pince, et on introduira son extrémité dans le tube de verre contenant les germinations. Le ballon de verre refroidi servira, par conséquent, d'aspirateur lorsque la pince sera ouverte, et il sera facile par ce moyen de faire monter le mercure dans le tube de verre. Enfin, on recouvrira encore le mercure dans le tube d'une couche d'eau de 3 millimètres d'épaisseur; on effectuera les lectures nécessaires pour la détermination du volume de l'air dans l'appareil, et on introduira un petit morceau d'hydrate de potassium dans le tube de verre. Cette substance sera rapidement dissoute par l'eau qui surmonte le mercure et, comme la lessive de potasse formée absorbe immédiatement l'anhydride carbonique qui provient de la respiration normale des germinations, on pourra à chaque instant entreprendre de nouvelles lectures pour mesurer la quantité d'anhydride carbonique produite.

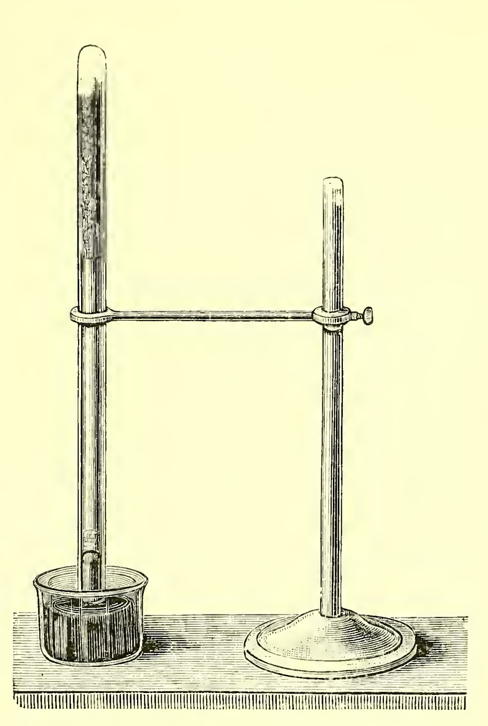


Fig. 78. — Appareil pour déterminer la quantité d'oxygène que les organes végétaux peuvent absorber pour leur respiration.

Si l'on poursuit pendant longtemps, quelques jours, par exemple, ces recherches sur la respiration intramoléculaire, on trouvera qu'une quantité donnée de germinations produit de moins en moins d'anhydride

carbonique pendant l'unité de temps dans les mêmes conditions extérieures du milieu. Les matériaux d'étude tombent peu à peu dans un état pathologique, et il est important de le savoir, car il en résulte que l'on ne doit point prolonger trop longtemps (mais seulement 6-8 heures environ) les recherches qui ont pour but de comparer la respiration normale avec la respiration intramoléculaire. Des études de ce genre montrent que peu de plantes, c'est le cas, par exemple, pour les germinations de *Vicia Faba*, produisent à peu près autant d'anhydride carbonique par la respiration intramoléculaire que par la respiration normale. La plupart des matériaux d'étude donneront des quantités d'anhydride carbonique considérablement plus grandes à la lumière qu'à l'obscurité.

106. La relation qui existe entre la respiration normale, la respiration intramoléculaire et la respiration dans l'oxygène pur.

On sait que les plantes expirent aussi de l'anhydride carbonique au contact de l'hydrogène, mais dans ces conditions l'anhydride carbonique est un produit d'une respiration interne ou intramoléculaire, et son oxygène provient, comme son carbone, des matières organiques de certains éléments constituants des cellules. On sait également que la plupart des plantes périssent peu à peu lorsqu'elles séjournent longtemps dans un espace dépourvu d'oxygène. Il en résulte que les expériences sur la respiration intérieure ne peuvent être que de courte durée. Mais les résultats de recherches de ce genre sont si instructifs qu'ils s'imposent à notre attention.

Nous expérimenterons sur des germinations de *Vicia Faba*, de *Triticum vulgare* et de *Brassica Napus*. Lorsque leurs racines auront atteint 10-20 millimètres de longueur, nous porterons un grand nombre de ces germinations dans un ballon d'une capacité de 200 c. c., de manière que les matériaux d'étude occupent 150 c. c. environ. Nous opèrerons ensuite de la façon indiquée dans le § 101. L'anhydride carbonique produit par les plantes sera enlevé par l'eau de baryte ; mais, au lieu de faire passer l'air dans l'appareil par aspiration, nous le chasserons d'un gazomètre dans l'appareil. Pour que l'air soit débarrassé de son anhydride carbonique avant de parvenir aux germinations, nous lui ferons traverser un flacon rempli d'une lessive de potasse ainsi qu'un tube de verre contenant des morceaux de pierre ponce trempés dans la lessive de potasse. L'hydrogène se trouvera aussi dans un gazomètre. Il sera préparé au moyen de zinc et d'acide sulfurique dilué. Avant d'arriver aux germinations, il traversera une lessive de potasse ainsi qu'un tube de verre contenant des morceaux de pierre ponce qui ont été plongés dans une dissolution de permanganate de potassium. Nous dirigerons d'abord un rapide courant d'air dans l'appareil, et nous le règlerons de telle sorte que 3 litres d'air traversent

l'appareil en une heure, puis nous intercalerons les tubes de baryte destinés à l'absorption de l'anhydride carbonique. Au bout d'une demi-heure, nous enlèverons ces tubes pour chasser pendant une demi-heure environ un courant d'hydrogène dans l'appareil, de façon à déplacer l'air, et nous intercalerons un nouveau tube à baryte pour l'absorption de l'anhydride carbonique lorsque nous aurons de nouveau réglé la vitesse du courant gazeux. Nous expérimenterons de nouveau pendant une demi-heure. Enfin, nous déterminerons aussi la quantité d'anhydride carbonique expirée par les germinations lorsque leur respiration est normale, et se fait par conséquent au contact de l'air. Il faudra évidemment veiller à ce que les matériaux d'étude restent exposés à une température constante (1).

Ces expériences, souvent répétées, nous permettront de constater que les germinations de *Vicia* produisent pendant l'unité de temps à peu près autant d'anhydride carbonique lorsqu'elles respirent normalement dans l'air que lorsque la respiration, s'effectuant dans l'hydrogène, est intramoléculaire. Les plantules de *Triticum* et surtout celles de *Brassica* produisent, au contraire, beaucoup moins d'anhydride carbonique lorsque leur respiration est interne que lorsqu'elle est normale.

Si l'on veut effectuer des expériences comparables sur la respiration des plantes, d'une part dans l'air, d'autre part dans l'oxygène pur, nous opèrerons identiquement de la même façon que celle qui vient d'être indiquée. Seulement, au lieu de faire passer de l'hydrogène d'un gazomètre dans l'appareil, on emploiera de l'oxygène. Ce corps sera préparé de la façon ordinaire, c'est-à-dire par la calcination d'un mélange de chlorate de potassium et de bioxyde de manganèse. Mais avant de le diriger dans le ballon sur les germinations, on lui fera traverser une solution d'hydrate de potassium. Les plantules de *Pisum sativum* ont une respiration également vive dans l'oxygène pur et dans l'air atmosphérique, mais d'autres germinations ne se comportent pas exactement de la même manière (2).

107. Les plantes en contact avec le protoxyde d'azote.

On a souvent émis l'hypothèse que les cellules végétales pouvaient employer l'oxygène du protoxyde d'azote pour leur respiration normale. J'ai fait des recherches spéciales sur les questions qui s'y rattachent (3) et je vais indiquer de quelle manière elles ont été effectuées. Une cloche courbe (voy. fig. 9), d'une capacité de 90 c. c. environ,

(1) On trouvera dans: Pfeffer, *Untersuchungen aus d. botan. Institut zu Tübingen*, vol. 1, cah. 4, la description d'un appareil plus compliqué, et partant plus difficile à construire, destiné à des recherches comparatives sur la production d'anhydride carbonique dans l'air et l'hydrogène.

(2) Voy. Johannsen, *Untersuchungen aus d. botan. Institut zu Tübingen*, vol. 1, cah. 4.

(3) Voy. Detmer, *Landwirthschaftl. Jahrbücher*, vol. 11, p. 213.

est remplie d'eau distillée, préalablement bouillie, puis complètement refroidie dans un vase fermé, qui sera déplacée par du protoxyde d'azote (*a*). Une autre cloche courbe (*b*) sera de même remplie d'eau dans laquelle N^2O sera introduit après qu'on y aura placé 20 germinations de pois âgées de 7 jours et développées dans l'obscurité. Une troisième cloche (*c*) sera aussi pourvue d'eau et de plantules de pois, mais on y fera pénétrer de l'air atmosphérique. Le protoxyde d'azote se prépare en chauffant du nitrate d'ammonium du commerce dans une cloche courbe, et en débarrassant le gaz, avant de l'employer, des petites quantités d'oxyde d'azote et d'acide nitrique qu'il pourrait entraîner, en le faisant passer à travers une dissolution de sulfate ferrique et une lessive de potasse. Lorsqu'on introduira les gaz, on veillera à ce qu'une très petite quantité d'eau reste dans les cloches courbes. Dans mes expériences, après avoir été préparés de la façon qui vient d'être indiquée, les appareils sont laissés en repos pendant 20 heures à une température de 20° C. environ. L'ouverture des cloches est plongée dans le mercure, et les petites quantités d'eau restantes ont pour objet de protéger les plantules contre l'action nuisible des vapeurs mercurielles. Après ces 20 heures, tous les appareils sont plongés sous l'eau, qu'il est nécessaire de maintenir à une basse température à l'aide de morceaux de glace, en ayant soin d'empêcher la pénétration de l'air. Il se produira peu à peu une absorption presque complète des gaz qui se trouvent dans les cloches courbes *a* et *b*, tandis qu'il reste un grand volume de gaz dans la cloche courbe *c*. Il en résulte que le protoxyde d'azote a été décomposé par les plantules. Les petites quantités de gaz qui restent après l'absorption de N^2O dans la cloche *a* (en l'absence de germination) ainsi que dans la cloche *b* (en présence de germinations), provenaient évidemment de l'eau employée comme liquide d'absorption.

Nous effectuerons encore l'expérience qui va suivre afin de prouver que les graines, plus spécialement, ne peuvent germer dans le protoxyde d'azote. Deux cloches courbes (*a* et *b*) seront remplies d'eau distillée et complètement refroidie dans un vase fermé. Dans chaque cloche, nous porterons encore quelques grains gonflés de froment, puis nous plongerons dans le mercure les ouvertures des cloches et nous déplacerons l'eau en *a* par du protoxyde d'azote, en *b* par de l'air atmosphérique. Au bout de quelques jours, les grains germeront en *b*; ceux qui se trouvent en *a* ne germeront point. Cependant, si on les porte à l'air et si on les expose aux conditions normales de germination, ils développeront après coup leurs plantules s'ils n'ont pas séjourné trop longtemps dans le protoxyde d'azote, mais, par exemple, deux jours seulement.

108. Expériences sur la respiration, la production d'alcool et la croissance de la levure.

Lorsqu'il s'agit de démontrer que la fermentation alcoolique, due à l'action de la levure, produit de l'anhydride carbonique, on remplit aux 2/3 un flacon, d'une capacité de 500 c. c. environ, de la dissolution nutritive de Pasteur (pour sa préparation, voy. le § 17), à laquelle on ajoute une quantité suffisante de levure. Le flacon sera fermé au moyen d'un bouchon traversé par la branche la plus courte d'un tube de verre courbé deux fois à angle droit. Quand, après quelque temps, le liquide subira une fermentation énergique, on remplira un second vase d'eau de baryte claire et on le fermera au moyen d'un bouchon percé de deux ouvertures. Dans l'une, on introduira un tube de verre ouvert à ses deux extrémités; dans l'autre, la longue branche du tube de verre courbé à angle droit dont il vient d'être question. Des bulles de gaz s'élèveront maintenant dans l'eau de baryte et provoqueront bientôt un trouble considérable dans le liquide. Il y a par conséquent production d'anhydride carbonique pendant la fermentation. On peut aussi le constater en se servant du vase à fermentation de Kühne (voy. fig. 79). On remplira complètement la partie tubulée R de l'appareil de la solution nutritive de Pasteur, ce qui s'effectuera aisément en inclinant convenablement l'appareil, puis on introduira une quantité suffisante de levure dans le liquide fermentescible. La quantité considérable d'anhydride carbonique devenue libre et accumulée en R poussera le liquide dans la partie sphérique K de l'appareil. Pour s'assurer que le gaz produit est de l'anhydride carbonique, il suffira de porter un morceau de potasse caustique dans le liquide. Le gaz sera complètement absorbé. On pourra encore prouver qu'il se produit de l'anhydride carbonique pendant la fermentation en procédant d'une autre manière. On mettra la solution de Pasteur additionnée de levure dans un long tube à réactions que l'on retournera sur le mercure. L'anhydride carbonique qui se formera va refouler de plus en plus le liquide dans le tube, et sa présence pourra être aisément constatée au moyen d'une lessive de potasse. Pour introduire ce réactif dans le tube à réactions, on aspirera une petite quantité de cette substance dans une pipette dont l'extrémité inférieure est recourbée; puis on fera pénétrer cette extrémité dans l'ouverture du tube à réactions au-dessous du

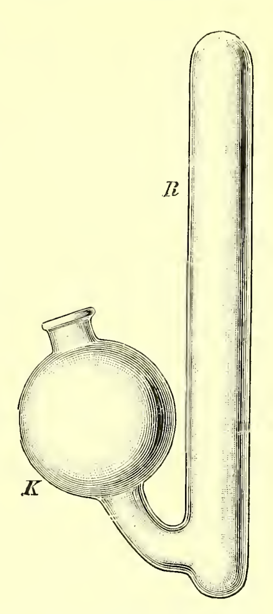


Fig. 79. — Vase à fermentation de Kühne.

mercure; on chauffera alors la pipette avec la main tout en maintenant à l'aide du doigt son extrémité supérieure fermée.

Pour démontrer que la levure est réellement en état de produire aux dépens du glucose de l'alcool ainsi que de l'anhydride carbonique et quelques autres substances, on chauffera la solution de Pasteur mélangée d'une quantité de levure assez considérable, puis on la versera dans un grand ballon lorsque la fermentation sera complète. On chauffera alors avec précaution jusqu'à ébullition et on dirigera les vapeurs dégagées dans un réfrigérent. Lorsque 1/4 du liquide aura passé à la distillation, on interrompra l'opération, on neutralisera la partie distillée avec du carbonate de sodium et on distillera de nouveau. Il sera facile maintenant de relever la présence d'alcool dans le liquide qui va provenir de cette distillation. Il a une odeur caractéristique, il est combustible et il prend une couleur verte lorsqu'il est mélangé avec du bichromate de potassium et de l'acide sulfurique, car l'acide chromique en oxydant l'alcool subit une réduction. Il convient de dissoudre le bichromate de potassium dans une petite quantité d'eau, avant d'ajouter l'acide sulfurique. Quelques gouttes de ce mélange seront alors portées dans le liquide alcoolique (1).

Nous avons déjà souvent eu l'occasion de montrer que les cellules de levure peuvent provoquer, en présence de l'air, une fermentation alcoolique énergique par leur croissance et leur multiplication. La dissolution nutritive de Pasteur additionnée d'un peu de levure laisse bientôt apercevoir ce phénomène. Mais les cellules de levure, à l'inverse de celles des plantes supérieures, peuvent effectuer aussi leur croissance et leur multiplication en l'absence complète d'oxygène libre (2). Pour constater ce fait, nous monterons d'abord l'appareil que la fig. 80 représente. Dans le vase *a*, nous préparerons de l'anhydride carbonique au moyen de spath calcaire (et non de marbre poreux) et d'acide chlorhydrique étendu. On purifiera cet anhydride en le faisant passer à travers le vase *b* contenant une dissolution de bicarbonate de soude. L'anhydride carbonique traversera alors les deux tubes de verre R′ et R″, courbés trois fois à angle droit, réunis l'un à l'autre dans le vase en porcelaine *c* au moyen d'un court tuyau de caoutchouc *k*. Le vase *d*, d'une capacité de 400 c. c. environ, sera rempli aux 2/3 de la solution nutritive de Pasteur mélangée d'une petite quantité de levure bien lavée. A travers une ouverture du bouchon de caoutchouc qui ferme hermétiquement le vase *d*, nous enfoncerons une branche du tube R″; la courte branche du tube R‴ sera introduite dans l'autre ouverture. La longue branche de ce dernier tube sera plongée dans un vase *e* rempli de mercure.

(1) Voy. E. Wolff, *Anleitung zur chem. Untersuchung landwirthschaftl. wichtiger Stoffe*, 1875, p. 224, pour la méthode à employer dans le dosage de l'acool.

(2) On trouvera dans mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie* la bibliographie principale concernant la fermentation alcoolique.

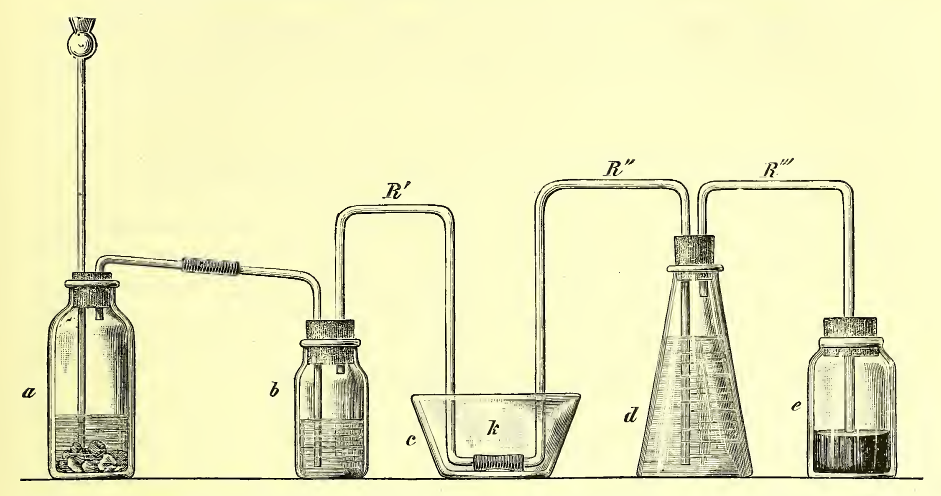


Fig. 80. — Appareil pour constater qu'il existe des organismes dont le développement peut s'effectuer en l'absence complète d'oxygène.

Au moment d'effectuer les expériences, on chauffera le vase *d* qui contient la solution de Pasteur, en ayant soin de boucher le col du vase à l'aide d'un tampon d'ouate. On laissera refroidir, puis on additionnera de levure le liquide jusqu'à formation d'un léger trouble et on montera l'appareil. Tous les tubes, avant d'être employés, devront être soigneusement nettoyés, et il conviendra de les laver avec de l'eau distillée bouillante. Il sera bon surtout de prendre les mesures de précaution qui vont être indiquées, afin d'éviter autant que possible l'accès de l'air dans la solution de Pasteur. On intercalera entre le tube de verre R' et le vase *b*, dans lequel se trouve la dissolution de bicarbonate de sodium, un flacon renfermant une solution de sucre en voie de fermentation active, afin que l'acide carbonique soit dépourvu de toute trace d'oxygène libre. Pour éviter l'accès de l'air dans le vase *d*, on fera usage d'un bouchon de caoutchouc enfoncé profondément dans le col du vase, de manière qu'on puisse placer du mercure dans le col au-dessus du bouchon. Après avoir versé du mercure dans le vase en porcelaine *c*, on dirigera de l'anhydride carbonique pendant 2 heures dans l'appareil et on interrompra la communication entre les tubes R′ et R″ en enlevant le tuyau de caoutchouc. Si, maintenant, on laisse longtemps reposer le vase *d* (il convient de l'exposer à une température de 25-30° C.), dans lequel l'accès de l'air est empêché d'une façon absolue au moyen du mercure, il ne tardera pas à se produire un trouble dans la solution de Pasteur, et il pourra même se produire un dépôt des masses de levure qui viennent de se former. La multiplication de la levure est loin d'être aussi importante qu'en présence de l'air, mais l'expérience que nous avons entreprise nous apprend cependant que la levure est en état de croître

et de bourgeonner en l'absence complète d'oxygène libre. On pourra, par l'examen microscopique, se rendre compte de la nature du dépôt formé.

109. L'émission de chaleur par les plantes et la phosphorescence.

Le phénomène de la respiration est nécessairement lié à un dégagement de chaleur. La chaleur émise par les végétaux peut dans certaines circonstances atteindre une hauteur considérable; on a trouvé, notamment, que les tissus dont la respiration est active ont parfois une température qui dépasse de plusieurs degrés celle du milieu ambiant. Les spadices d'aroïdées dégagent souvent beaucoup de chaleur (1); mais comme ces matériaux d'étude ne sont pas constamment à notre disposition, nous emploierons surtout des graines en germination, avec lesquelles il sera aisé de constater en toute saison que les plantes produisent de la chaleur. Nous ferons usage de l'appareil que représente la fig. 81. Sous une cloche en verre se trouve un vase G contenant une solution concentrée de potasse. L'entonnoir *T* reçoit d'abord un petit filtre percé, puis les germinations dont on veut étudier l'émission de chaleur. La tubulure de la cloche de verre est fermée au moyen d'un bouchon par l'ouverture duquel un thermomètre *Tm* est introduit dans l'appareil, de telle sorte que le réservoir à mercure du thermomètre soit complètement entouré de graines en germination. Il sera facile de se procurer les germinations, qui serviront de matériaux d'étude, en plaçant les graines gonflées (*Pisum*, *Triticum*) dans des cristallisoirs en verre sur du papier à filtrer maintenu humide; la germination ne tardera pas à s'effectuer. A côté de l'appareil contenant les germinations, on en placera un second présentant exactement les mêmes dispositions. Seulement, l'entonnoir ne sera pas rempli de plantes en voie de germination, mais de boulettes de papier trempées dans l'eau. J'ai expérimenté, par exemple, sur des plantules de froment âgées de 4 jours, placées dans un entonnoir ayant une capacité de 200 c. c. environ. Le thermomètre, au bout de quelque temps, indiquait 19° C., tandis que celui qui était entouré de boulettes de papier mouillées ne donnait que 17° C. L'excès de température des germinations était donc de 2° C. En employant l'appa-

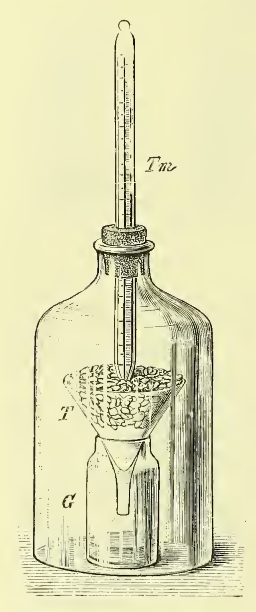


Fig. 81. — Appareil pour montrer la chaleur émise par les plantes.

(1) Voy. G. Kraus, *Abhandlungen d. naturforsch. Gesellschaft zu Halle*, vol. 16. Ce travail contient aussi la bibliographie du sujet.

reil que nous venons de décrire, il n'est pas à craindre que les matériaux d'étude ne manquent d'oxygène, car on n'a point fait usage de fermeture imperméable à l'air et parce que l'anhydride carbonique produit est absorbé par la solution de potasse. Mais il importe que les appareils soient montés et pourvus de leurs germinations ou de leurs boulettes de papier quelques heures avant qu'il ne faille (pendant la leçon, par exemple) noter les températures. Avant d'entreprendre les expériences, il sera évidemment nécessaire de comparer soigneusement les indications fournies par les deux thermomètres. Il sera instructif également d'employer des boutons d'*Anthemis* ou de *Bellis*, par exemple, comme matériaux d'études, au lieu des germinations. La production de chaleur par ces organes est assez considérable.

Pour constater le dégagement de chaleur pendant la fermentation alcoolique produite par les cellules de levure, il suffira de procéder de la façon qui va être indiquée. On prendra deux vases (A et B). Dans A, on versera 300 c. c. de la dissolution nutritive de Pasteur; dans B, 300 c. c. d'eau. Les deux liquides recevront une quantité considérable de levure et seront laissés à une température de 24° C. environ. Lorsqu'il se produira une vive fermentation dans le vase A, on mesurera la température des liquides. On verra ainsi que la température du liquide dans le vase A est supérieure de 1-2° C. à celle de l'eau du vase B (1).

Il a été prouvé que certaines plantes émettent de la lumière par suite de phénomènes vitaux. C'est ainsi qu'on a pu observer d'une façon positive la production d'une phosphorescence chez l'*Agaricus olearius* et les rhizomorphes. Mais je n'ai jamais eu l'occasion d'observer ces phénomènes. J'ai pu cependant examiner la luminosité des poissons en putréfaction, due à des bactéries, mais je ne sais si ce phénomène se produit très communément ou s'il n'a lieu que dans des circonstances déterminées.

III. LE ROLE DES MATIÈRES PLASTIQUES NON AZOTÉES DES PLANTES.

110. De l'amidon, comme matière de réserve.

Des substances non azotées sont accumulées sous forme d'amidon dans

(1) Pour la production de chaleur par la respiration intramoléculaire, voy. Eriksson, in *Untersuchungen aus d. botan. Institut zu Tübingen*, vol. 1, cah. 1.

un très grand nombre de dépôts de matières de réserve. On peut s'assurer de ce fait en portant dans une goutte d'eau sur le porte-objet, pour les examiner ensuite au microscope, des coupes minces pratiquées dans les cotylédons de pois ou de fèves, dans l'albumen d'un grain de froment, dans un tubercule de pomme de terre ou dans un rhizome de *Canna indica*. Il est facile de reconnaître les grains d'amidon dans les cellules, et on pourra, au surplus, les colorer en bleu par l'iode. En hiver, l'amidon se dépose très généralement aussi et constitue une substance de réserve dans les rayons médullaires ainsi que dans le bois des arbres et des plantes herbacées (1). J'ai obtenu des résultats particulièrement satisfaisants en examinant, à ce point de vue, en janvier et en février, des branches de *Berberis vulgaris*, de *Fraxinus excelsior* et de *Fagus silvatica*. On pratique des sections longitudinales et transversales dans le bois de *Berberis vulgaris*, on les dépose sur un porte-objet dans une goutte de glycérine iodée (que l'on prépare en laissant de l'iode longtemps en contact avec de la glycérine), puis on les recouvre d'une lamelle, et on chauffe le porte-objet dans une flamme à alcool. Après refroidissement, on verra au microscope que les éléments du bois (surtout les fibres libriformes, très nombreuses) et plus particulièrement les rayons médullaires, contiennent une matière amylacée transformée en empois et colorée en bleu. Le bois de *Fraxinus* est composé de larges vaisseaux et d'autres, étroits, d'un parenchyme ligneux peu développé, qui se trouve surtout dans le voisinage des vaisseaux, et de fibres ligneuses. Les sections transversales du bois de frêne traitées de la même façon, par la glycérine iodée, montrent que les rayons médullaires, notamment, sont riches en amidon. Dans le bois de *Fagus*, outre des vaisseaux et des fibres ligneuses, il existe un parenchyme ligneux, assez développé, en bandes tangentielles. Ce dernier est riche en amidon, et il en est de même des larges rayons médullaires. Au printemps, l'amidon abandonne les rayons médullaires et le bois des faisceaux libéro-ligneux ; il est alors manifestement transporté des tissus où il est accumulé comme matière de réserve, vers les organes de la plante en voie de croissance.

Pour nous rendre plus exactement compte de la teneur en amidon d'un rhizome, nous choisirons pour nos observations le rhizome rampant horizontalement dans le sol du *Pteris aquilina*. Nous pourrons faire usage de matériaux conservés dans l'alcool, mais nous aurons soin de choisir des morceaux de rhizome peu épais. Le tissu fondamental est surtout composé de parenchyme dont les cellules contiennent de grandes quantités d'amidon. Il est traversé par des plaques très développées de sclérenchyme, qui se laissent déjà apercevoir, sous forme de larges lignes noires, à l'examen macroscopique des sections transver-

(1) Voy. SANIO, *Untersuchungen über die im Winter Stärke führenden Zellen des Holzes*, Halle, 1858.

sales du rhizome. Les faisceaux libéro-ligneux, collatéraux, sont aisés à distinguer entre ces plaques scléreuses. Chacun de ces faisceaux est entouré par une rangée unique de cellules riches en amidon et de l'endoderme, proprement dit, dépourvu d'amidon.

Nous reviendrons fréquemment sur la signification de l'amidon emmagasiné dans les dépôts de matières de réserve. Il suffira de remarquer ici que l'amidon constitue la substance non azotée de réserve la plus importante des plantes, et qu'elle doit être d'abord transformée en combinaisons solubles pouvant abandonner les dépôts de matières de réserve. Comme on le verra dans le § 112, la matière amylacée peut être, notamment, transformée en glucose sous l'action des ferments diastasiques, et ce glucose permet l'émigration de la matière amylacée.

111. Dosage de l'amidon.

De nombreuses données ont déjà été fournies, en un autre endroit, sur les propriétés et le rôle de l'amidon. Il s'agira surtout ici d'indiquer la méthode à suivre pour le dosage de l'amidon. On sait que l'amidon ne peut pas exercer d'action réductrice sur la liqueur de Fehling, mais qu'il peut être transformé en glucose par les acides, et que la quantité de glucose formée peut être aisément déterminée au moyen de la liqueur de Fehling. Dans un ballon, on verse, avec 200 c. c. d'eau, 2 à 3 gr. d'amidon de pomme de terre, déshydraté sous une température de 100 à 110° C. Le liquide est additionné de 20 c. c. d'une solution à 25 % d'acide chlorhydrique, et chauffé pendant 3 heures dans un bain-marie soumis à une vive ébullition, en ayant soin de remplacer l'eau évaporée (1). Après refroidissement, le liquide est neutralisé par la potasse et dilué jusqu'à 500 c. c. On chauffe alors une solution de Fehling au bain-marie dans une capsule en porcelaine, on ajoute 20 c. c. de la solution sucrée et on chauffe de nouveau pendant 10 à 15 minutes (2). L'oxyde cuivreux formé est recueilli sur un filtre aussi rapidement que possible, lavé à l'eau chaude, puis desséché. On incinère alors le filtre; on chauffe au rouge l'oxyde cuivreux, dans une capsule en platine, en l'additionnant d'une légère quantité d'acide nitrique; puis on détermine finalement le poids de l'oxyde cuivrique obtenu. On sait que 220,5 parties de celui-ci correspondent à 100 parties de glucose ou 90 parties d'amidon. La liqueur de Fehling nécessaire se prépare de la façon qui va être indiquée. On dissout 34 65 gr., de sulfate cuivrique pur dans 200 c. c. d'eau; on mélange cette solution avec une solution

(1) Anciennement, on employait l'acide sulfurique pour transformer l'amidon en glucose, mais il est préférable d'employer l'acide chlorhydrique (Voy. R. Sachsse, *Phytochemische Untersuchungen*, 1880, p. 47).

(2) Il faut remarquer que les liquides sucrés réduisent déjà la liqueur de Fehling à chaud lorsqu'ils ne renferment que 1/4 et 1/2 0/0 de sucre.

de 173 gr. d'acétate sodo-potassique dans 480 c. c. d'une solution de soude caustique ayant un poids spécifique de 1.14, et on dilue le liquide à 15° C. jusqu'à 1.000 c. c.

Il faut encore remarquer que l'amidon contient de très petites quantités de substances minérales. On en cherchera le poids pour le déduire du poids d'amidon obtenu.

112. La présence de la diastase dans les plantes et le mode d'action de ce ferment.

La diastase est très répandue dans le règne végétal, mais en quantités différentes suivant les plantes. L'orge germé est très riche en diastase. En broyant, à l'aide d'un petit moulin, du malt provenant d'une brasserie, on obtient une poudre qui convient bien pour la préparation d'une solution de diastase. On verse 100 c. c. d'eau sur 25 gr. de malt en poudre ; on laisse le liquide pendant quelque temps en contact avec la poudre, en ayant soin d'agiter continuellement ; puis on filtre. En mélangeant 25 c. c. d'empois d'amidon à 1 % (préparé en mélangeant 100 c. c. d'eau distillée avec 1 gr. d'amidon de pomme de terre et en portant le liquide à l'ébullition) avec 5 c. c. de ce liquide diastasique filtré, on remarque aussitôt une transformation de l'amidon. Immédiatement après avoir effectué le mélange d'empois et d'infusé de malt, on en prélève une petite quantité qui se colore en bleu par l'addition d'une trace de teinture d'iode. Au bout de quelques minutes, le liquide contenant de l'amidon et de la diastase est devenu clair, mais une prise d'essai se colore encore en bleu sous l'action de l'iode. Après quelque temps, les prises d'essai prennent une couleur violette sous l'influence des solutions iodées. Plus tard encore, l'iode colore en brun les prises d'essai du liquide examiné, et, finalement (au bout de 2 à 3 heures environ), l'iode ne produit plus de coloration dans les prises d'essai du liquide. L'amidon, comme on le sait, se décompose, sous l'influence de la diastase, en sucre (maltose) et en une série de dextrines successives. Toutes ces dextrines ne se colorent pas de la même manière sous l'action de l'iode. Ce réactif nous permettra de suivre aisément le cours du phénomène de la transformation de l'amidon sous l'action de la diastase. La formation de sucre est facile aussi à constater. A l'aide de la liqueur de Fehling, on détermine la richesse en sucre de 5 c. c. d'infusé de malt (voy. § 111) ; puis on mélange 25 c. c. d'empois avec 5 c. c. d'infusé de malt ; enfin, au bout de quelques heures, on détermine la richesse en sucre du liquide soumis à l'expérimentation. On voit ainsi que ce dernier contient plus de sucre que 5 c. c. d'infusé de malt.

En mélangeant une quantité, pas trop petite, d'infusé de malt aussi concentré que possible avec un fort excès d'alcool absolu, il se forme un dépôt volumineux. On le recueille sur un filtre, on le lave à l'alcool

et on dessèche le résidu, à l'air. Ce résidu, qui se compose d'une série de substances différentes, contient aussi la diastase précipitée par l'alcool. Si on dissout dans l'eau une petite quantité de cette substance sèche, on obtient un liquide exerçant une action énergique sur l'amidon.

Il sera intéressant aussi de montrer expérimentalement que la diastase se rencontre, non seulement dans l'orge germé, mais encore dans d'autres germinations, ainsi que dans les feuilles et les tiges de diverses plantes. J'ai écrasé dans un mortier des germinations de quelques jours ainsi que des plantules de pois de 10 jours (les matériaux d'étude s'étaient développés dans l'obscurité), ensuite des feuilles de *Sedum maximum* et une tige d'*Impatiens Balsamina*. Ces divers matériaux d'étude étaient recouverts d'eau, et les liquides enlevés par filtration au bout de quelque temps. En contact avec l'empois, les solutions obtenues transformaient l'amidon, comme on pouvait le constater à l'aide de l'iode. Les matériaux d'étude contenant beaucoup moins de diastase que les plantules d'orge, il est nécessaire d'employer un empois très étendu et de n'en porter qu'une petite quantité (2 c. c., par exemple) dans de grandes quantités d'infusés des plantes (10 c. c. environ) (1).

Pour se rendre compte de l'action exercée par la diastase dans la plante, il importe de constater que ce ferment peut transformer et dissoudre non seulement l'empois d'amidon, mais encore des grains intacts d'amidon. Dans un verre de montre, on porte 3 centigrammes d'amidon de froment desséché à l'air avec 3 c. c. d'infusé de malt concentré ou 3 c. c. d'une solution aqueuse du ferment précipité par l'alcool. Si on emploie ce dernier liquide, on ajoutera une très petite quantité d'acide citrique, car, comme nous le verrons dans le § 113, la présence d'acide favorise énormément l'action de la diastase. Le verre de montre sera soigneusement recouvert et on observera les altérations que subissent les grains d'amidon, relativement grands, pendant le cours de 24 à 48 heures, en examinant au microscope des gouttes du liquide, déposées sur un porte-objet. J'ai pu m'assurer que les grains présentent de grandes différences individuelles vis-à-vis de la solution contenant le ferment. En général, les corrosions qui se produisent dans les grains d'amidon s'effectuent de la façon représentée par la fig. 82, *a*, *b*,

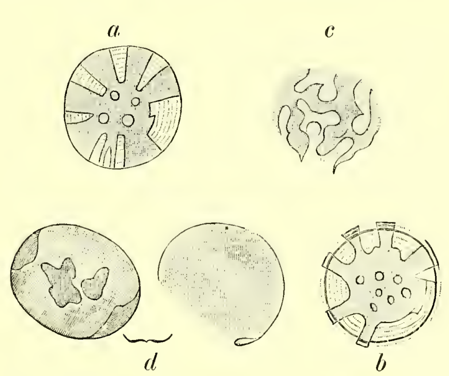


Fig. 82. — Divers stades de la corrosion des grains d'amidon, de l'albumen du froment *a*, faiblement corrodé; *b*, *c*, et *d*, de plus en plus fortement corrodés (d'après Baranetzky).

(1) Voy. Detmer, *Landwirthschaftl. Jahrbücher*, p. 10.

c et *d*. La dissolution de la matière amylacée s'effectue de l'extérieur vers l'intérieur; il se produit des bandes claires dirigées radialement, qui s'élargissent à mesure que la corrosion des grains avance et pénètrent de plus en plus à l'intérieur (1).

113. Influence de diverses substances et de la température sur le cours du phénomène de la transformation de l'amidon par la diastase.

Dans un certain nombre de petits vases, on porte 25 c. c. d'empois d'amidon à 1 %. Le vase *a* ne contient point d'autre substance; le vase *b* reçoit quelques gouttes d'acide chlorhydrique; le vase *c*, quelques gouttes d'une solution concentrée d'acide citrique; le vase *d*, quelques gouttes d'une solution de potasse; le vase *e*, quelques gouttes d'alcool; le vase *f*, quelques gouttes de chloroforme. Dans chaque vase, on versera encore 5 c. c. d'infusé de malt, et, au bout de 24 heures, on ajoutera à ces liquides une petite quantité de teinture d'iode à l'aide d'une baguette de verre. Les liquides des vases *a*, *e* et *f* ne se colorent pas en bleu; tous les autres prennent une couleur bleue par l'addition d'iode. L'alcool et le chloroforme n'ont pas détruit l'activité de la diastase, tandis que les acides et l'alcali l'ont rendue inefficace.

Il faut d'ailleurs remarquer, au sujet de l'influence exercée par les acides sur le ferment diastasique, que seules de grandes quantités d'acide peuvent détruire l'activité de la diastase. Si on mélange, d'une part, 25 c. c. d'empois avec 5 c. c. d'infusé de malt et, d'autre part, 25 c. c. d'empois avec 5 c. c. d'infusé de malt et 2-3 milligrammes d'acide citrique, la transformation de l'amidon s'effectuera plus rapidement dans ce dernier liquide que dans le premier. Au lieu de détruire l'activité de la diastase, de petites quantités d'acide citrique (de petites quantités d'autres acides agissent de la même manière), au contraire, la favorisent.

On mélange, d'une part, 25 c. c. d'empois d'amidon à 15 ou 20° C. avec 5 c. c. d'infusé de malt ayant aussi une température de 15 ou 20° C., et on mélange, d'autre part, 25 c. c. d'empois avec 5 c. c. d'infusé de malt après refroidissement à 4° C. Il sera facile de montrer, par l'action de l'iode, que le phénomène de la transformation de l'amidon sous l'influence de la diastase s'effectue plus rapidement sous une haute température que sous une basse.

Si on fait bouillir l'infusé de malt, et qu'on mélange avec de l'empois le liquide refroidi, on remarque qu'il ne se produit point de transformation de l'amidon. Le ferment a été détruit sous l'influence de la haute température à laquelle il a été soumis (2).

(1) Voy. Baranetzky, *Die stärkeumbildenden Fermente in den Pflanzen*, 1878, p. 48.
(2) Voy. Detmer, *Pflanzenphysiologische Untersuchungen über Fermentbildung und fermentative Processe*, Iéna, 1884, et ensuite *Landwirthschaftl. Jahrbücher*, v. 10.

114. La formation de diastase dans les cellules des plantes supérieures.

Dans deux cloches courbes, d'une capacité de 90 c. c. environ, on porte 20 grains de froment desséchés à l'air. On remplit ces cloches d'eau bouillie froide; on bouche leur ouverture au moyen du pouce et on les retourne chacune, de la façon indiquée par la fig. 9, p. 29, dans un vase rempli de mercure et d'eau. Au bout de 24 heures, on déplace l'eau dans une cloche par de l'air atmosphérique, dans l'autre par de l'hydrogène. L'hydrogène se prépare en versant, dans un appareil approprié, de l'acide sulfurique dilué sur du zinc exempt d'arsenic, et en dirigeant le gaz, d'abord dans une dissolution de nitrate d'argent, puis dans une dissolution de permanganate de potassium, pour le débarrasser des traces d'acide sulfhydrique et d'hydrures de carbone qu'il pourrait entraîner. Pour éviter l'action des vapeurs mercurielles sur les matériaux d'étude, on laisse une petite quantité d'eau dans les cloches à la surface du mercure. Les grains de froment plongés dans l'air atmosphérique ne tarderont pas à germer; dans l'hydrogène, la germination ne s'effectuera point. Des expériences de contrôle montrent cependant que les grains ne sont pas rapidement tués dans l'hydrogène et qu'ils conservent assez longtemps la faculté de germer (au moins pendant plusieurs jours). Il en résulte que le développement des embryons pourra encore s'accomplir lorsque les grains seront placés à l'air dans des conditions favorables pour la germination. Après avoir passé 2 à 3 jours dans l'air atmosphérique ou dans l'hydrogène, les matériaux d'étude sont retirés des cloches courbes, puis broyés dans un mortier et addiditionnés de 20 c. c. d'eau. Au bout d'un certain temps, on filtre en faisant usage d'un filtre sec. Si on mélange alors 10 c. c. du filtrat avec 20 c. c. d'empois d'amidon étendu, l'iode montre que la macération provenant des germinations de froment, développées à la lumière dans les cloches courbes, transforme assez énergiquement l'amidon, tandis que celle des matériaux d'étude restés en contact avec l'hydrogène ne possède qu'un pouvoir saccharifiant très faible. Ce dernier n'est pas supérieur à celui d'une macération préparée en versant 20 c. c. d'eau sur 20 grains de froment en repos et broyés. L'expérience effectuée montre, par conséquent, que la production de diastase dans les cellules des plantes supérieures ne peut avoir lieu qu'en présence de l'oxygène libre de l'atmosphère (1).

115. Réaction microchimique et dosage des glucoses.

La dextrose, la maltose, etc., possèdent la propriété de réduire di-

(1) Voy. Detmer, *Botan. Zeitung*, 1883, n° 37, et *Pflanzenphysiologische Untersuchungen über Fermentbildung und fermentative Processe*, Iéna, 1884.

rectement la liqueur de Fehling. Les principes sucrés qui se comportent de la même façon ont reçu la dénomination générale de glucoses. Lorsqu'il s'agit, par exemple, de déterminer la richesse du malt en glucoses, on cherche d'abord le poids sec d'une petite quantité de malt, broyée au moyen d'un moulin. Puis on traite à plusieurs reprises par l'eau froide 3 gr. environ de malt en poudre, et on filtre la dissolution obtenue. Souvent, les macérations de graines et de germinations, dont nous aurons aussi à nous occuper, ne filtrent pas clair. Mais il sera facile d'obtenir des liquides clairs en les faisant traverser pendant longtemps par de l'anhydride carbonique lavé. On traite les filtrats, après les avoir réunis, par l'acétate de plomb ; on les filtre et on les dilue jusqu'à un volume déterminé, par exemple 200 c. c. Au moyen de la liqueur de Fehling, on dosera le sucre du liquide obtenu (voy. § 111).

Pour relever, par voie microchimique, la présence de glucose dans les tissus, on pratiquera d'abord des sections transversales dans les matériaux d'étude : des poires ou des pommes, par exemple. Ces coupes ne seront pas trop minces afin que toutes les cellules ne soient pas ouvertes. Il sera bon d'employer des coupes possédant 3 rangées cellulaires intactes. Ces coupes seront déposées dans une dissolution concentrée de sulfate de cuivre à la température ordinaire, reprises avec une fine pince peu de temps après, puis lavées superficiellement par immersion dans l'eau distillée. Elles seront alors portées immédiatement dans une solution bouillante de potasse (1) ou, mieux (2), dans une dissolution bouillante de 10 grammes d'acétate potasso-sodique et 10 grammes de potasse caustique dans 10 grammes d'eau. S'il existe du glucose, les cellules qui en contiennent montreront un précipité, d'un beau rouge, d'oxyde cuivreux. L'examen des coupes au microscope permettra de se rendre compte de la distribution du sucre dans le tissu.

116. La dextrine.

Un mélange de 100 c. c. d'eau et d'un gramme d'amidon de pomme de terre est porté à l'ébullition. L'empois obtenu, additionné de quelques gouttes d'acide sulfurique ou d'acide chlorhydrique, est chauffé de nouveau. Le liquide se clarifie rapidement et, après refroidissement, une petite prise d'essai prend encore une coloration bleue en présence de l'iode. Mais si on continue à chauffer la solution acide et qu'on prélève de temps en temps (à peu près toutes les 5 minutes) de petites prises d'essai que l'on traite par l'iode après refroidissement, on remarque que les premières prises d'essai prennent une coloration violette

(1) Voy. Sachs, *Jahrbücher f. wissenschaftl. Botanik* de Pringsheim, vol. 3, p. 187.
(2) Voy. Arthur Meyer, *Berichte d. deutschen botan. Gesellschaft*, vol. 3, p. 332.

en présence de l'iode, que les suivantes se colorent en rouge-brun et finalement en jaune. Ces colorations nous apprennent que l'amidon produit successivement diverses espèces de dextrines sous l'influence des acides. La matière amylacée se décompose d'abord en sucre et en amylodextrine I qui se colore en violet par l'iode. Cette amylodextrine I se divise, sous l'action des acides, en sucre et en amylodextrine II colorée en rouge-brun par l'iode. De l'amylodextrine II se forment ensuite, outre du sucre, des dextrines se colorant en jaune en présence de l'iode, et, finalement, la dextrine disparaît complètement par suite de sa transformation totale en sucre (1).

On peut prouver qu'il se forme des dextrines dans les cellules végétales (notamment celles qui se colorent en brun par l'iode). Des pois sont pulvérisés au moyen d'un moulin. La poudre est mélangée d'une petite quantité d'eau, et, au bout d'une heure, un courant d'anhydride carbonique est dirigé dans le liquide; on procède alors au filtrage : opération qui sera fort facilitée par l'anhydride carbonique. Une petite quantité du filtrat clair est mise en contact avec une paillette d'iode ; le liquide prend une couleur brune de plus en plus prononcée et se comporte exactement de la même manière qu'une solution aqueuse de dextrine du commerce en presence de l'iode. L'eau distillée, en contact avec l'iode, ne prend qu'une coloration jaunâtre (2). Si on examine l'action de la liqueur de Fehling sur la macération dans l'eau des semences de pois, on remarque qu'il ne se produit point de réduction. Mais si on fait longtemps bouillir la macération, après l'avoir additionnée de quelques gouttes d'acide sulfurique, le liquide réduira énergiquement la liqueur de Fehling : la dextrine s'étant transformée en glucose sous l'influence de l'acide.

117. Dosage et réaction microchimique de la saccharose.

La saccharose est une substance qui entre dans la constitution d'un grand nombre de sucs végétaux. Le jus de betteraves est particulièrement riche en saccharose. D'après E. Wolff (3), pour doser la saccharose des racines, on doit opérer de la façon que nous allons indiquer. Les betteraves, soigneusement nettoyées, sont découpées en rondelles. On suspend par des cordons 500 à 1000 grammes de ces rondelles dans une étuve chauffée à 60-70° C. La masse sèche est réduite en une poudre assez grossière, et on établit le poids de matières sèches d'une petite quantité de la poudre (5 à 6 gr.) après avoir déterminé le poids total de la poudre. On fait bouillir à diverses reprises 2 à 3 grammes de la poudre

(1) Voy. W. Nägeli, *Beiträge zur näheren Kenntniss der Stärkegruppe*, 1879, et Detmer, *Landwirthschaftl. Jahrbücher*, vol. 10, p. 752.
(2) Voy. Detmer, *Journal f. Landwirthschaft*, 27e année, p. 379.
(3) Voy. E. v. Wolff, *Anleitung zur chem. Unters. landwirthschl. wichtiger Stoffe*, 1875, p. 184.

de betteraves avec de l'alcool à 80 à 85 %, on filtre la solution après chaque ébullition et on lave finalement le résidu sur le filtre avec de l'alcool chaud. Toute la solution est alors mélangée d'une grande quantité d'eau, et chauffée ensuite au bain-marie jusqu'à ce que l'alcool soit complètement évaporé. Le liquide est dilué jusqu'à 300 c. c. Puis, à l'aide de la liqueur de Fehling, on cherche aussitôt la quantité de glucose contenue dans 100 c. c. Il est à remarquer que le glucose, lorsqu'il ne fait pas complètement défaut, ne se trouve qu'en minime quantité dans le liquide. On chauffe au bain-marie, pendant 3 heures, 200 c. c. du liquide additionné de 4 gouttes d'acide sulfurique, en ayant soin de ramener toujours le liquide à son volume primitif. On dilue jusqu'à 400 c. c. Après neutralisation par le carbonate de soude, on dosera le glucose à l'aide de la liqueur de Fehling. Il sera facile de déduire, des valeurs trouvées pour le glucose, la quantité de saccharose qui se trouve dans les betteraves fraîches ou à l'état de siccité. On a donné précédemment (voy. § III) les indications nécessaires pour la préparation et l'emploi de la liqueur de Fehling.

Il est facile de voir, par ce qui précède, de quelle manière on doit procéder lorsqu'il s'agira seulement de montrer qualitativement la présence de saccharose dans les betteraves.

Pour relever, par voie microchimique, la présence de saccharose dans les betteraves, on placera des coupes assez épaisses, afin que toutes les cellules ne soient pas ouvertes, dans une solution cuivrique froide provenant d'un mélange de sulfate de cuivre et d'acétate potasso-sodique. Puis, après avoir lavé ces coupes dans l'eau, on les plongera pendant un temps très court dans une solution chaude de potasse. A l'examen microscopique des coupes, la présence de la saccharose sera décelée par la belle coloration bleue des cellules (1).

118. De la cellulose, comme matière de réserve.

Dans quelques graines, la cellulose fait l'office de matière de réserve non azotée. A l'aide d'un rasoir très aiguisé, on détache une mince section transversale d'un noyau de datte coupé en travers. Les cellules, allongées, ont des parois extraordinairement épaissies, pourvues d'un grand nombre de ponctuations simples. On imprègne une coupe de l'albumen du dattier d'une solution iodurée d'iode, puis on fait passer du bord de la lamelle à la coupe de l'acide sulfurique dilué, provenant du mélange de 2 parties en volume d'acide avec 1 partie d'eau. Les couches d'épaississement de la membrane cellulaire prennent une belle coloration bleue. Si on traite (de la façon donnée dans le § 39, p. 75) des coupes de cet albumen par la dissolution de phloroglucine

(1) Voy. Sachs, *Jahrbücher* de Pringsheim, vol. 3, p. 183.

et l'acide chlorhydrique, les coupes ne se colorent pas en rouge. Les couches d'épaississement ne sont donc pas lignifiées, mais cellulosiques. Cette cellulose est utilisée pendant la germination de la graine du dattier.

119. L'inuline.

L'inuline est particulièrement abondante dans les organes souterrains d'un grand nombre de composées. Elle se trouve en dissolution dans le suc cellulaire et remplit le rôle de matière de réserve non azotée. En versant de l'eau sur une petite quantité d'inuline, on observe qu'elle se dissout très difficilement. Mais si l'on chauffe, l'inuline se dissoudra complètement. Elle ne réduit pas la liqueur de Fehling. Cependant si l'on mélange une solution de Fehling chaude avec une solution d'inuline préparée à une haute température, il se forme un léger précipité d'oxyde cuivreux, parce que l'eau chaude peut déjà transformer en glucose de petites quantités d'inuline. Si on fait bouillir une solution d'inuline, additionnée de quelques gouttes d'acide sulfurique, il y a production d'une grande quantité de glucose, et le liquide exerce une vive action réductrice sur la liqueur de Fehling.

Une solution chaude d'inuline offre ce phénomène intéressant de ne point donner de précipité d'inuline immédiatement après refroidissement, mais seulement longtemps après. Si on ajoute un excès d'alcool à une solution d'inuline qui vient d'être refroidie, l'inuline se précipite rapidement. Cette insolubilité de l'inuline dans l'alcool est mise à profit en microchimie pour reconnaître la présence de l'inuline. Des coupes, pas trop minces, pratiquées dans la portion médullaire d'un tubercule de *Dahlia variabilis* sont portées sur un porte-objet, recouvertes d'alcool, puis, après un certain temps, plongées dans l'eau. L'examen microscopique de coupes dans l'eau montre que l'inuline s'est déposée en sphéro-cristaux. On obtient des sphéro-cristaux particulièrement bien développés, lorsqu'on laisse macérer dans l'alcool pendant 8 à 14 jours au moins des tranches de tubercules

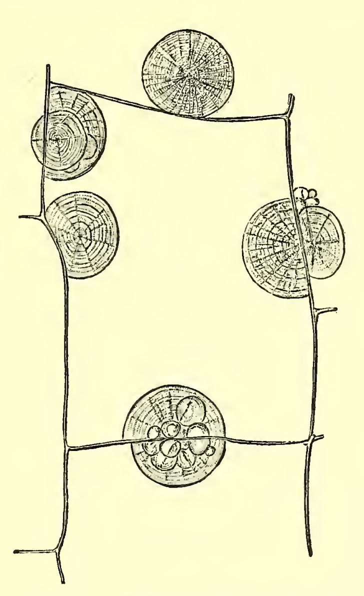


Fig. 83. — Cellule d'un tubercule de *Dahlia variabilis* ayant macéré plusieurs mois dans l'alcool. Des sphéro-cristaux d'inuline se sont formés sur les membranes (d'après Strasburger). Gros. 240.

(1) Voy. Sachs, *Botanische Zeitung*, 1864, p. 25, et Prantl, *Das Inulin*, Munich, 1870.

de Dahlia, puis qu'on pratique des coupes dans ces matériaux à l'alcool pour les examiner dans l'eau. Les sphéro-cristaux sont accollés aux membranes cellulaires; ce sont des productions globulaires (voy. fig. 83) d'un aspect caractéristique (1).

120. Les matières grasses des plantes et leur dosage.

Lorsqu'on épuise par l'éther des matières végétales desséchées et contractées, on obtient une solution qui laisse un résidu formé essentiellement de matières grasses quand on la soumet à l'évaporation. La quantité de substances étrangères qui accompagne cette graisse est d'ordinaire si minime qu'elle peut presque toujours être négligée, lorsqu'on s'occupe du dosage des matières grasses dans les organes végétaux. L'appareil que représente la fig. 84 convient très bien pour ce dosage (1).

On verse de l'éther dans un petit ballon *k*, fermé au moyen d'un bouchon traversé par l'extrémité inférieure d'un tube à chlorure de calcium *ch*. L'autre extrémité du tube est fermée au moyen d'un bouchon percé d'une ouverture dans laquelle on introduit la branche la plus courte d'un tube de verre *g* courbé deux fois à angle droit. La longue branche de ce tube passe à travers l'un des trous d'un bouchon percé de deux ouvertures, d'un petit ballon *k*' dont il atteint le fond. La seconde ouverture du bouchon reçoit un tube en verre *g'*. Si on bouche maintenant l'extrémité inférieure du tube à chlorure de calcium avec un peu d'ouate purifiée par l'action de l'éther, et qu'on porte sur cette ouate les matériaux d'étude (2 à 5 gr.) réduits en poudre

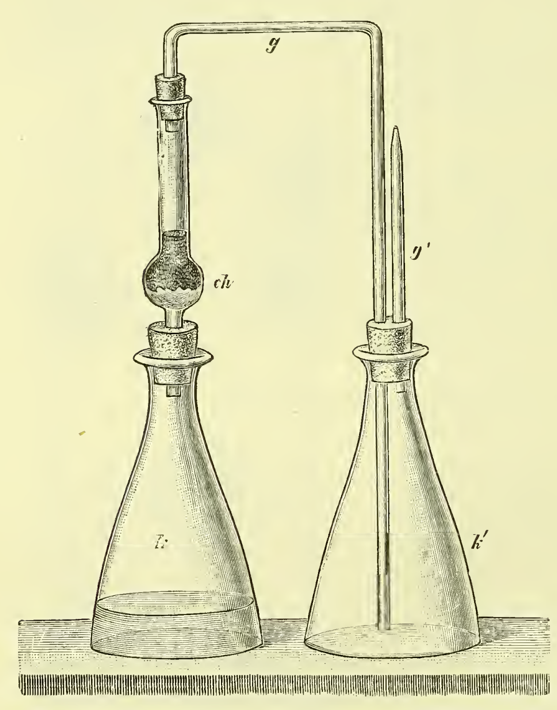


Fig. 84. — Appareil pour le dosage des matières grasses.

(1). Voy. Detmer, in *Forschungen auf. d. Gebiete der Agriculturphysik* de Wollny, vol. 2, cah. 1.

fine et desséchés à 103° C., on a tous les éléments nécessaires pour effectuer un dosage de matières grasses. En plongeant le ballon *k* dans l'eau chaude, il se forme des vapeurs d'éther qui se condensent en partie dans le tube à chlorure de calcium, et en partie seulement dans le ballon *k*. Lors du refroidissement de l'appareil, tout l'éther revient dans le ballon *k*, après avoir enlevé à la matière végétale une certaine quantité de matières grasses. En chauffant l'éther à diverses reprises, le liquide en *k'* contiendra finalement toutes les matières grasses des matériaux d'étude. On filtre la solution, si c'est nécessaire; on distille l'éther avec précaution; puis on dessèche à 103° C. le résidu du ballon *k* et on le pèse.

Les matières grasses sont constituées par des mélanges d'acides gras libres et de glycérides. Je démontre la présence de la glycérine dans ces dernières substances en procédant de la façon qui va être indiquée. Dans une capsule en porcelaine, 57 c. c. environ d'huile d'olives sont mis pendant longtemps à digérer au bain-marie avec une solution étendue de potasse. Après refroidissement, le liquide est additionné d'un grande quantité de sulfate de sodium; le savon formé est séparé par filtration, et le filtrat, neutralisé par l'acide sulfurique. Puis le liquide est soumis à l'évaporation; le résidu, traité par l'alcool; la solution obtenue, séparée par filtration des sulfates et évaporée. Après avoir été traitée de nouveau par l'alcool, pour être purifiée, la solution est évaporée après filtration. Il reste un liquide sirupeux, d'un goût sucré, la glycérine. Si on dissout dans l'eau ce résidu et qu'on mélange une partie du liquide avec une solution étendue de sulfate cuivrique, dans laquelle on a précipité de l'hydrate cuivrique par l'addition d'une solution de potasse, on observe que l'hydrate de cuivre se dissout (réaction de la glycérine).

121. Les réactions des huiles grasses.

A l'aide d'une baguette de verre, nous déposons sur un porte-objet une légère quantité d'une huile grasse quelconque à laquelle nous ajoutons un mélange d'alcool et d'éther qui dissout la graisse; puis nous recouvrons d'une lamelle et nous examinons au microscope. Lorsque l'alcool et l'éther sont dilués, notre préparation montre de grosses et de petites gouttes qui représentent des matières grasses. Elles sont d'un gris-blanc en coupe optique, et enveloppées d'un mince anneau noir. Si nous abaissons le tube, chaque goutte d'huile n'est plus entourée d'un anneau sombre, mais d'un anneau clair. Les gouttes d'huile ne peuvent être confondues avec les bulles d'air, car lorsqu'on examine ces dernières au microscope et qu'on abaisse le tube, leur bord sombre, au lieu de s'éclaircir, augmente au contraire de largeur.

Dans les cellules de l'albumen de *Ricinus* ou dans celles des cotylédons de *Brassica*, une grande quantité de matières grasses se rencontrent à côté des matières albuminoïdes. Pour montrer la présence des premières, il nous suffira de placer sur le porte-objet de minces coupes de ces graines et de les traiter par un mélange d'alcool et d'éther. Les gouttes de graisses qui se produisent aussitôt sont faciles à reconnaître.

La teinture d'alcanna (extrait fortement coloré de la racine d'alcanna, préparé en traitant cet organe par de l'alcool à 70-80 %) peut servir aussi à découvrir les corps gras, bien que cette réaction, d'après mes expériences au moins, ne soit point particulièrement accusée. Lorsqu'on examine, par exemple, des coupes de l'albumen de ricin, dont les cellules contiennent une matière grasse qui présente cette particularité d'être soluble dans l'alcool, on mélange la teinture d'alcanna de son volume de glycérine, on agite à diverses reprises les coupes dans ce mélange, puis on les lave superficiellement à l'alcool et on les dépose dans la glycérine. Les grains d'aleurone sont incolores ou peu colorés, tandis que la masse fondamentale prend une forte coloration rouge à cause des matières grasses qu'elle renferme.

L'acide osmique en solution aqueuse à 1 % constitue aussi un réactif des huiles grasses. Des coupes de l'albumen du ricin placées dans cette solution prennent après quelque temps une couleur sombre, parce que l'acide osmique noircit les graisses.

122. Le rôle des matières grasses pendant la germination des graines.

Dans un grand nombre de graines (*Ricinus, Helianthus*, *Cucurbita*, *Brassica*, etc.), les matières grasses constituent des substances de réserve non azotées. Ces matières grasses jouent le même rôle, au point de vue physiologique, que l'amidon dans les graines qui en contiennent beaucoup. Elles fournissent des matériaux pour la respiration et pour l'édification des membranes cellulaires. Mais, avant d'être employées dans les cellules de l'embryon en voie de croissance, les matières grasses doivent être d'abord transformées en amidon ou en sucre. Il sera par conséquent très intéressant de montrer la formation de ces produits d'oxydation des matières grasses pendant la germination des graines oléagineuses.

Comme matériaux d'étude, nous choisirons des graines de *Ricinus communis*. L'embryon, qui se rencontre dans une cavité située au centre d'un albumen fort développé, se compose d'un axe et de deux minces cotylédons. Les grandes cellules de l'albumen contiennent, comme nous avons déjà eu l'occasion de le voir, une masse fondamentale riche en albumines et en matières grasses, dans laquelle

se trouvent des grains d'aleurone. A l'aide de l'iode, il est facile de s'assurer qu'il n'existe pas d'amidon dans les cellules de l'albumen et de l'embryon.

On fait germer quelques graines de ricin dans de la terre de jardin, en l'absence de lumière et sous une température pas trop basse (20° C., environ). Alors que la racine principale ainsi que l'axe hypocotylé se sont déjà considérablement allongés, la partie supérieure de ce dernier organe reste encore recourbée parce que les cotylédons sont encore cachés dans l'albumen. A ce moment, comme avant la germination, l'albumen ne renferme pas d'amidon, mais seulement des matières grasses et albuminoïdes. Les cotylédons ont pour fonction d'absorber les matières de réserve de l'albumen afin qu'elles puissent être utilisées par la jeune plante. Il existe beaucoup de matières grasses dans le parenchyme cotylédonaire. L'amidon qui faisait complètement défaut, comme on l'a vu, dans les tissus cotylédonaires avant la germination, se trouve en grande quantité dans les cellules du parenchyme qui enveloppe extérieurement la nervure médiane. Les cellules du cambium des faisceaux libéro-ligneux ne contiennent que des matières albuminoïdes. Il en est de même des cellules cambiales de l'axe hypocotylé. Le parenchyme cortical et médullaire de la partie supérieure de l'axe hypocotylé, en voie de croissance, est très riche en amidon et en sucre, comme il est facile de le prouver par le procédé connu, tandis que la quantité de ces substances va en diminuant de plus en plus dans la partie inférieure de l'axe. Dans les parties complètement développées de l'axe hypocotylé, le parenchyme ne contient ni sucre ni graisse; il n'y existe guère de grains d'amidon que dans les cellules de la gaîne amylifère entourant le cercle des faisceaux libéro-ligneux. Dans la racine principale, on ne trouve pas non plus d'amidon ni de matières grasses; mais le parenchyme des racines latérales, dont la croissance est active, contient par contre beaucoup de sucre.

A mesure que la germination s'avance, les matières grasses disparaissent de plus en plus de l'albumen des graines de ricin ; elles sont employées pour la croissance de la plantule. L'axe hypocotylé se redresse, et la partie ligneuse ainsi que la partie libérienne des faisceaux de cet organe continuent à se développer. L'amidon et le sucre provenant des matières grasses disparaît des cellules parenchymateuses à mesure que s'effectue l'allongement de la portion supérieure de l'axe hypocotylé. Il ne sera donc possible de déceler la présence de grains d'amidon que dans les cellules de la gaine amylifère qui entoure les faisceaux libéro-ligneux.

On s'occupera plus loin de la fonction de la gaine amylifère, qu'il nous suffise ici de constater son existence. Elle se présente comme une gaine fermée entourant le cercle des faisceaux libéro-ligneux, et, comme la fig. 85 le montre, elle est nettement développée dans l'axe

hypocotylé du ricin. Pour le reste, voy. la légende de cette figure.

On admet généralement que le développement des organes de l'embryon du ricin s'effectue progressivement de la racine aux cotylédons en passant par l'axe hypocotylé. L'amidon apparaît en grande quantité dans les cellules du parenchyme au début de l'allongement et pendant le développement intérieur de l'organe. Lorsque l'allongement

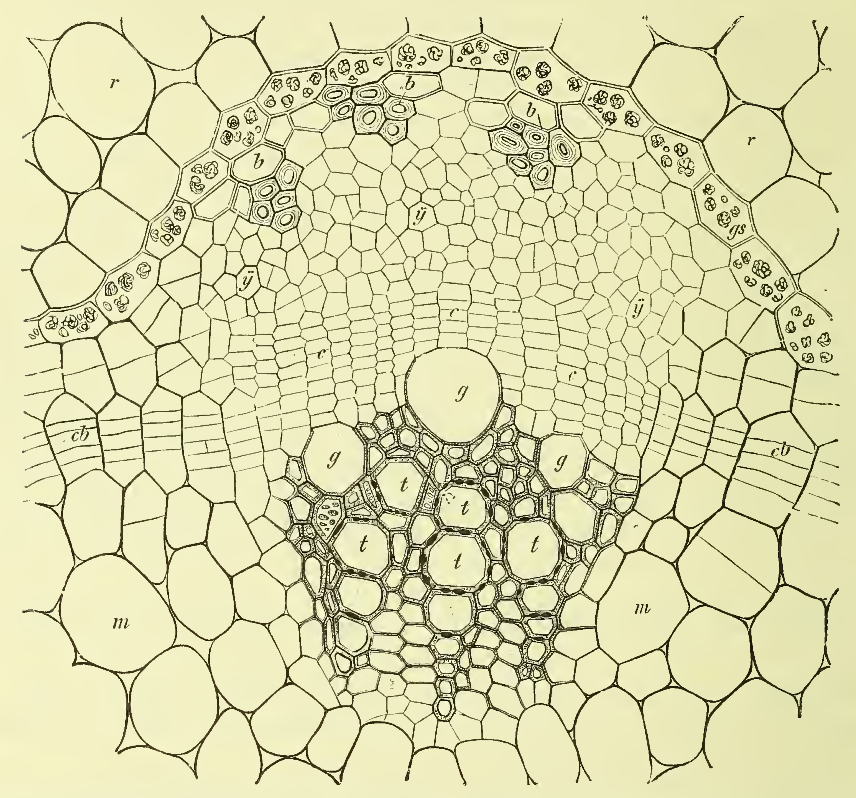


Fig. 85. — Section transversale d'un faisceau libéro-ligneux situé dans l'axe hypocotylé complètement allongé du *Ricinus communis*. La section longitudinale est représentée par la fig. 26. *r*, parenchyme de l'écorce primaire; *m*, parenchyme médullaire. Entre *r* et *b* se trouve l'assise périphérique du cylindre central, contenant des grains d'amidon (gaine amylifère). Le faisceau se compose du liber *b*, *y* du bois *t*, *g* et du cambium *c*, *c*. Le cambium du faisceau *c*, *c* se prolonge en un cambium interfasciculaire *c b* dans les bandes de tissu fondamental séparant les faisceaux. Dans le liber : *b*,*b*, fibres libériennes; *y*, *y*, liber mou, formé en partie de parenchyme, en partie de tubes criblés. Dans le bois : *t*, *t*, vaisseaux ponctués étroits; *g*, *g*, larges vaisseaux ponctués, séparés par des fibres ligneuses (d'après Sachs).

s'effectue rapidement, le parenchyme contient également beaucoup de sucre. Mais les hydrates de carbone auront disparu de nouveau du parenchyme lorsque l'allongement et le développement des organes seront complets; ils auront été employés à la formation de la cellulose (1).

(1) Voyez Sachs, *Botanische Zeitung*, 1859, p. 177, et ensuite Detmer, *Vergleichende Physiologie des Keimungsprocesses der Samen*, 1880, p. 316.

Nous savons qu'on rencontre de grandes quantités d'amidon dans les tissus parenchymateux et médullaire de la partie supérieure de l'axe hypocotylé du ricin, lorsque cet organe est encore incurvé et que les cotylédons sont encore cachés dans l'albumen. Cet amidon, comme j'ai pu l'établir, existe en quantité si considérable qu'il est possible de montrer sa présence par voie macroscopique pendant une leçon. Des coupes de la partie supérieure de l'axe hypocotylé seront traitées sur porte-objet par l'hydrate de chloral et une solution d'iodure de potassium ioduré. Si les auditeurs dirigent vers la lumière la préparation recouverte d'une lamelle, ils pourront constater la présence de cette notable quantité d'amidon par suite de l'apparition d'une coloration bleue chez les matériaux d'étude.

123. Germination des graines de Phaseolus multiflorus.

Les graines de haricot (*Phaseolus multiflorus*) en voie de germination constituent des matériaux d'étude favorables pour l'étude d'une série de transformations chimiques et de certains phénomènes concernant le transport des aliments dans la plante (1). Le tégument séminal du haricot est composé de quatre couches, comme on peut s'en assurer par l'étude de sections transversales. La couche la plus intérieure est formée de cellules comprimées. Elle est suivie d'une autre à plusieurs rangées de cellules, renfermant une matière colorante rouge, surtout lorsqu'on a des graines bigarrées. Cette couche est limitée par une troisième, composée de petites cellules arrondies. Elle entoure la couche palissadique dont les éléments, allongés perpendiculairement à la surface de la graine, ont des parois fortement épaissies. L'expérience m'a appris que, pour obtenir de bonnes préparations du tégument séminal, il est nécessaire de laisser d'abord gonfler les graines pendant 12 heures, puis de les dessécher pendant 12 heures aussi. Les matériaux préparés de cette façon sont d'un bon emploi pour la confection de sections transversales minces du tégument séminal. Celui-ci enveloppe l'embryon, constitué par deux grands cotylédons et un axe embryonnaire (racine, axe hypocotylé, premier entrenœud caulinaire, gemmule) avec les deux feuilles primordiales. Il est facile de voir que les cotylédons laissent un creux entre leurs surfaces internes concaves et que l'axe de l'embryon est incurvé en forme de genou. Les cotylédons sont constitués par un épiderme et un parenchyme fort développé, parcouru par des faisceaux libéro-ligneux. Les cellules épidermiques ne renferment pas d'amidon, mais les éléments du parenchyme en contiennent beaucoup. Outre cette substance, ils possèdent des albumines comme on

(1) Voy. Sachs, *Sitzungsberichte der Akadem. d. Wiss. zu Wien*, 1859, vol. 37, p. 57, et Detmer, *Vergleichende Physiologie des Keimungsprocesses der Samen*, 1880, p. 308.

peut s'en assurer en traitant les coupes des cotylédons par l'iode ou la liqueur de Fehling. Les cellules des faisceaux libéro-ligneux sont dépourvues d'amidon, mais contiennent des albumines. De fines sections transversales à travers l'axe embryonnaire nous montrent qu'il se compose d'un épiderme, d'un parenchyme cortical, d'un parenchyme médullaire et d'une région libéro-ligneuse intercalée entre ces deux derniers tissus. Les feuilles primordiales ont un pétiole et un limbe. On pourra constater la présence de nervures dans le limbe, en examinant au microscope une feuille étalée dans une goutte d'eau sur un porte-objet et recouverte d'une lamelle. Toutes les cellules parenchymateuses de ce limbe, dépourvues d'amidon, contiennent des albumines.

Des graines de haricot placées dans une terre humide ne tardent pas à germer. Les jeunes plantes se développent aux dépens des matières de réserve que renferment leurs cotylédons. Chez ces plantes en germination, l'attention se portera spécialement sur la sortie de la racine du tégument séminal, c'est ce qui s'observe d'abord, puis sur l'apparition de la tige recourbée à son sommet, sur la production des racines latérales, sur la formation de poils radicaux et des poils des tiges, sur la croissance des feuilles primordiales et enfin sur les différences que présentent les germinations qui s'accomplissent à la lumière et celles qui se font dans l'obscurité.

Nous aurons ici l'occasion de faire diverses observations sur le rôle joué par les substances plastiques pendant la germination. Lorsque la racine a atteint une longueur de 2 à 3 cm., on aperçoit un grand nombre de petits grains d'amidon dans la moelle et l'écorce du sommet de la racine ainsi que dans l'axe hypocotylé, bien que les cellules de l'axe embryonnaire ne contiennent d'ordinaire que peu d'amidon avant la germination. Il existe du glucose dans les cellules corticales et médullaires de l'axe, comme on peut s'en assurer en traitant les coupes par la solution cuivrique et la potasse, tandis que les albumines sont surtout localisées dans la région des faisceaux libéro-ligneux. A mesure que la racine s'accroît, par suite des progrès de la germination, et que le premier entrenœud s'allonge rapidement, l'amidon disparaît des cellules médullaires et corticales complètement développées. C'est ainsi, par exemple, que les cellules corticales et médullaires sont bientôt dépourvues d'amidon à la base de la tige, tandis que l'écorce et la moelle des parties supérieures en contiennent encore. Finalement, cet amidon émigre aussi. Ce dernier disparaît de même des feuilles primordiales à mesure de leur développement. Lorsque le premier entrenœud caulinaire est complètement allongé, son écorce et sa moelle sont complètement dépourvues d'amidon. Il n'en existe encore, et en grande quantité, que dans la gaine amylifère, très nettement développée chez le haricot, où elle est formée d'une rangée unique de cellules enveloppant le cercle des faisceaux libéro-ligneux. Les cellules médullaires et corticales qui ont perdu leur amidon, contiennent main-

tenant du sucre, qui disparaît peu à peu aussi quand la germination touche à sa fin. Les substances albuminoïdes sont particulièrement abondantes dans la portion libérienne des faisceaux, comme il est facile de le voir par l'action de la solution cuivrique et de la potasse. On peut considérer la germination des haricots comme achevée lorsque les feuilles primordiales sont complètement étalées. Les cotylédons sont alors à peu près complètement débarrassés de leurs matières de réserve. Les coupes traitées par la solution de cuivre et la potasse ne se coloreront plus en violet, puisqu'il n'existe plus d'albumine, mais en bleu clair. Il n'existe plus qu'une petite quantité d'amidon dans les cotylédons.

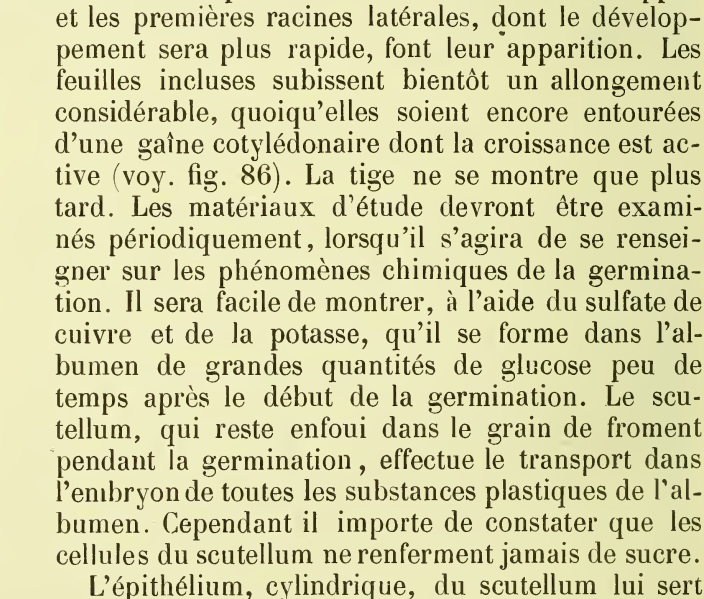
La dissolution des grains d'amidon dans les cotylédons a lieu dès que la vie se manifeste dans le germe, et cette dissolution se produit surtout dans les cellules cotylédonaires les plus voisines de l'axe et dans lesquelles les grains sont attaqués en premier lieu. Lorsque le premier entrenœud caulinaire des germinations de haricots s'allonge activement, on trouve, en effet, dans les cellules cotylédonaires de nombreux grains d'amidon corrodés, à côté d'autres restés intacts. On observe alors le phénomène de la dissolution de l'amidon qui, chose digne de remarque, ne s'effectue pas de l'extérieur vers l'intérieur du grain, mais dans le sens inverse.

124. Germination du Triticum vulgare.

Pour étudier soigneusement la structure du fruit de froment en repos, il ne faut point se procurer les coupes nécessaires dans un grain sec, mais dans un grain plus ou moins gonflé par l'action de l'eau. Le fruit se compose, outre les téguments du fruit et de la graine dont il a déjà été question ailleurs, de l'albumen et de l'embryon. En pratiquant des coupes transversales dans un grain, nous constaterons que la couche la plus extérieure de l'albumen est constituée par une rangée unique de cellules à peu près quadrangulaires, dont les membranes sont fortement épaissies et dont le contenu est formé de masses granuleuses. Il n'existe point de grains d'amidon dans ces cellules, mais beaucoup d'albumine, comme il est facile de le prouver à l'aide de l'iode ou du sulfate cuivrique et de la potasse. La masse principale de l'albumen se montre formée par des cellules arrondies renfermant des albumines ainsi que des grains d'amidon de diverses grandeurs. La présence des matières albuminoïdes est mise en évidence en traitant les coupes par le sulfate de cuivre et la potasse. L'embryon est situé latéralement dans l'albumen. Pour l'étude du germe, nous pratiquerons des sections longitudinales médianes dans le grain de froment, que nous examinerons, d'abord sous un faible, puis sous un fort grossissement (voy. fig. 59, p. 145). Nous nous occuperons en premier lieu de la portion de l'embryon, immédiatement contiguë à l'albumen, le scutel-

lum, qui mérite toute notre attention. Cet organe est constitué principalement par de petites cellules arrondies. Il n'y a que la couche cellulaire du scutellum contiguë à l'albumen qui possède une autre forme, comme on le verra distinctement en traitant les coupes par la potasse. Les cellules de l'épithélium du scutellum sont de forme cylindrique allongée. A la partie supérieure de l'embryon se montrent ensuite la gaîne cotylédonaire fermée, les feuilles qui y sont incluses et le sommet végétatif. La racine de l'embryon du froment est entourée d'une coléorhize; la séparation entre la racine et son enveloppe est nettement marquée par une ligne claire. L'amidon et le glucose ne se rencontrent ni dans les cellules du scutellum ni dans celles des autres parties de l'embryon, mais toutes les cellules de l'embryon contiennent une grande quantité d'albumine. Remarquons enfin que l'albumen des grains de froment en repos ne possède pas de sucre.

Des grains de froment gonflés ne tardent pas à germer lorsqu'on les porte sur des plaques de pierre ponce placées dans l'eau, et la croissance des organes de l'embryon s'effectue aux dépens des matières plastiques qui leur sont fournies par l'albumen. La radicule s'échappe, et les premières racines latérales, dont le développement sera plus rapide, font leur apparition. Les feuilles incluses subissent bientôt un allongement considérable, quoiqu'elles soient encore entourées d'une gaîne cotylédonaire dont la croissance est active (voy. fig. 86). La tige ne se montre que plus tard. Les matériaux d'étude devront être examinés périodiquement, lorsqu'il s'agira de se renseigner sur les phénomènes chimiques de la germination. Il sera facile de montrer, à l'aide du sulfate de cuivre et de la potasse, qu'il se forme dans l'albumen de grandes quantités de glucose peu de temps après le début de la germination. Le scutellum, qui reste enfoui dans le grain de froment pendant la germination, effectue le transport dans l'embryon de toutes les substances plastiques de l'albumen. Cependant il importe de constater que les cellules du scutellum ne renferment jamais de sucre.



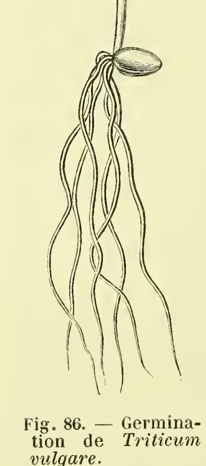


Fig. 86. — Germination de *Triticum vulgare*.

L'épithélium, cylindrique, du scutellum lui sert d'organe d'absorption. Bien qu'il soit toujours impossible de constater la présence d'amidon ou de glucose dans les cellules épithéliales, les autres cellules du scutellum contiennent transitoirement de l'amidon, immédiatement après le début de la germination. La présence de ce corps dans les cellules du scutellum peut être facilement prouvée, en traitant, notamment, les coupes par la potasse, l'acide acétique et la solution iodo-iodurée. Il faut remarquer, au surplus, que les grains de froment

en germination, dont on veut tirer des coupes pour l'examen microscopique, doivent être légèrement desséchés. Des albumines ainsi que des corps non azotés seront soutirés de l'albumen par le scutellum pour être fournis à la plantule en germination. Quand les germinations du froment se seront développées pendant cinq jours à la température ordinaire, par exemple, il sera facile, à l'aide du sulfate de cuivre et de la potasse, notamment, de relever la présence de grandes quantités d'albumine dans les parties jeunes des racines ainsi que dans les faisceaux libéro-ligneux opposés les uns aux autres dans la gaine cotylédonaire. Cette dernière croît alors encore très activement et est abondamment fournie de substances plastiques provenant de l'albumen. Dans le parenchyme de cette gaine se voient de nombreux grains d'amidon, dont la quantité diminue à mesure des progrès de la croissance de cette gaine pendant la germination. Les cellules des feuilles en voie d'accroissement contiennent aussi des grains d'amidon. Je n'ai pu relever l'existence de sucre à n'importe quel moment et en n'importe quelle partie de l'embryon du froment (les plantes que j'ai examinées s'étaient développées dans l'obscurité). Il n'y a du glucose que dans l'albumen du froment en germination. Il n'est d'ailleurs pas démontré qu'il n'existe pas aussi du glucose, dans certaines conditions, chez l'embryon du froment en germination. Il est évident que les cellules de l'albumen deviennent de plus en plus pauvres en matières de réserve (matières albuminoïdes et amylacées) à mesure que la plantule croît; et lorsqu'on place de petits fragments du tissu d'un albumen assez épuisé dans une goutte d'eau sur le porte-objet, on remarquera sous les plus forts grossissements, à côté de grains intacts, d'autres grains d'amidon à peu près rongés, corrodés par l'action des ferments diastasiques qui se forment pendant la germination du froment (1).

125. Germination des tubercules de pomme de terre.

Le tissu du tubercule de pomme de terre est formé à peu près exclusivement par un parenchyme amylifère à membranes minces. Il n'en est pas seulement ainsi de l'écorce et de la moelle, mais encore de presque tout le tissu situé dans le cercle des faisceaux libéro-ligneux, dont la nature est parenchymateuse et qui contient des grains d'amidon de diverses dimensions. Dans le bois, il n'y a que certains groupes ligneux (vaisseaux et fibres) ne possédant pas d'amidon, mais des albumines, tandis que des faisceaux libériens entiers peuvent se trouver dans ce cas. Les cellules du parenchyme cortical du tubercule de pomme de terre, de l'intérieur vers le tégument, deviennent de plus en plus

(1) Voy. Sachs, *Botanische Zeitung*, 1862.

petites et de plus en plus pauvres en amidon. Les cellules corticales contiguës au tégument possèdent même souvent un suc cellulaire ayant dissous des matières colorantes, etc. Le tégument du tubercule se compose d'un tissu subéreux à cellules tabulaires.

J'ai eu souvent l'occasion de remarquer la germination tardive des tubercules placés en automne dans une caisse pourvue d'un couvercle n'empêchant point l'accès de l'air. Dans les conditions ordinaires, les tubercules, avant de germer, traversent une période de repos. Cette germination qui commence vers l'époque du nouvel an, débute par la croissance lente de certains yeux des tubercules, surtout de ceux qui sont situés dans le voisinage de la partie du tubercule opposée à la région d'attache. Nous laissons alors les tubercules en repos dans l'obscurité et dépourvus d'eau. Au commencement de mars, certaines pousses du tubercule qui ont déjà atteint une longueur de quelques centimètres montrent des folioles squamiformes. Sur des sections transversales pratiquées dans la portion caulinaire de la pousse, il est facile de distinguer l'épiderme, le parenchyme cortical, le parenchyme médullaire et le cercle des faisceaux libéro-ligneux. Si on cherche à se rendre compte de la répartition des aliments dans des pousses parvenues à divers degrés de croissance, au moyen des méthodes microchimiques connues, on observe les particularités que nous allons indiquer. Dans les jets très jeunes, le parenchyme contient beaucoup d'amidon. Quand les cellules parenchymateuses s'allongent énergiquement en avançant en âge, elles deviennent surtout riches en glucose. Les matières albuminoïdes sont transportées par la partie libérienne des faisceaux. On ne rencontre que des matières albuminoïdes dans le cambium, les sommets végétatifs des tiges et les racines latérales formées fréquemment aux entrenœuds, et qui ne fendent pas l'épiderme, comme j'ai eu très souvent l'occasion de le constater chez les tubercules dont le développement s'effectuait dans l'air sec, car on sait généralement que dans les tissus où la division des cellules s'effectue très activement, on ne peut relever la présence des hydrates de carbone : ceux-ci étant extrêmement vite utilisés. Je ne m'étendrai pas davantage sur les détails; ils sont d'ailleurs faciles à constater (1).

126. Influence de la température sur la teneur en sucre des pommes de terre.

L'examen de la teneur en sucre des tubercules de pomme de terre est d'une grande importance, car des essais de ce genre fournissent des résultats intéressants pour toute une série de questions physiologiques. Pour effectuer cette recherche, on réduit, à l'aide d'une râpe ou d'une large lime, des tubercules de pomme de terre en une fine bouillie que l'on porte, pour être pressée, dans une toile qui a été plon-

(1) Voy. H. de Vries, *Landwirthschl. Jahrbücher*, vol. VII, p. 217.

gée dans l'eau bouillante. On se lave les mains avec de l'eau, on lave de même la râpe ou la lime, et on mélange l'eau qui a servi à ces lavages au résidu laissé par la compression; on presse de nouveau, puis on répète deux fois ces diverses opérations. Le liquide obtenu est alors versé dans un ballon d'une capacité d'1/2 litre que l'on remplit jusqu'au point de repère. On mélange une certaine quantité du liquide d'un peu d'acétate de plomb pour précipiter l'albumine, etc.; on filtre, et, à l'aide de la liqueur de Fehling, on détermine la quantité de sucre contenue dans le filtrat. Les pommes de terre qui viennent de mûrir contiennent du sucre. En examinant des tubercules qui n'ont point germé et qui ont longtemps séjourné (quelques semaines) dans une chambre chauffée à 15 à 20° C., on constate que ces tubercules sont dépourvus d'amidon. Si on conserve alors des tubercules de ce genre, pendant 14 jours environ, dans un endroit dont la température ne descend jamais au-dessous de 0°, mais ne s'élève jamais non plus au-dessus de 2 à 3° C. (dans une cave, par exemple), on observe qu'ils sont devenus sucrés et qu'ils renferment même beaucoup de sucre. Il est particulièrement bon, pour ces expériences de refroidissement, de porter les tubercules dans des thermostats placés dans une cave et consistant en un vase en zinc à doubles parois. L'espace compris entre les parois sera rempli de glace et l'appareil sera fermé, non à l'aide d'un couvercle ordinaire, mais au moyen d'un vase en tôle plein de glace. Ainsi, les tubercules seront constamment exposés dans le thermostat à une température de 0° C. En portant dans un vase en verre des pommes de terre qui ne renferment que peu ou point de sucre, et en plaçant ce vase dans un mélange réfrigérant (neige ou glace et sel marin), de manière que les tubercules se congèlent rapidement et rendent un son dur, on ne remarque aucun changement dans la teneur en sucre du produit de râpage, traité par l'eau, des tubercules gelés. Les faits que nous venons d'énoncer ont été indiqués pour la première fois par Müller-Thurgau (1). On trouvera aussi quelques données sur ce sujet dans un travail que j'ai récemment publié (2). Müller-Thurgau a démontré que le rapport qui existe entre la saccharification et la respiration des tubercules de pomme de terre varie considérablement avec la température, et qu'il faut s'inspirer exclusivement de cette considération pour comprendre les phénomènes établis, ou, tout au moins, ne pas la perdre de vue. Sous une haute température (15 à 20° C. environ) la respiration s'effectue d'une façon relativement énergique, de sorte que le sucre, employé à mesure qu'il se forme, ne peut se déposer dans les tubercules. Sous une basse température (0 à 3° C. par exemple), il se forme plus de sucre aux

(1) Voy. Müller-Thurgau, *Landwirthschl. Jahrbücher*, v. 11, p. 751.
(2) Voy. Detmer, *Pflanzenphysiologische Untersuchungen über Fermentbildung und fermentative Processe*, 1884, p. 41.

dépens de l'amidon que ne peut en employer la faible respiration que l'on observe dans ces conditions. Sous les basses températures, il se produira donc une accumulation de sucre dans les tubercules. Le gel même des tubercules sera sans influence sur leur richesse en sucre.

127. La maturation des fruits et des graines.

En examinant une section transversale mince d'une graine mûre de *Brassica Napus*, on constate que le tégument séminal est formé d'une série de couches distinctes. De l'extérieur vers l'intérieur, on remarque d'abord une couche de cellules incolores écrasées les unes contre les autres, à laquelle fait suite une couche de cellules colorées en brun et dont les cavités sont assez nettement dessinées. A cette dernière couche confine une troisième, constituée par des cellules de coloration brune, écrasées les unes contre les autres. La quatrième couche possède des cellules fortement épaissies, à cavité très nette, tandis que la cinquième, comme la première, ne présente plus de structure cellulaire. La seconde et la troisième couches du tégument séminal donnent une couleur brune à la graine. Il existe de grandes quantités de matières grasses et albuminoïdes dans les cellules des cotylédons nus. L'amidon manque complètement dans la graine mûre. Mais les graines non mûres, en voie de développement, en renferment beaucoup. Cette substance est transportée dans les organes de l'assimilation du colza pour y être complètement employée à la formation de matières grasses dans la graine. Nous pratiquons des sections transversales dans une silique verte de *Brassica Napus* (j'ai examiné le 20 mai, par exemple, des siliques de 6 à 8 cm. de longueur). Entre les deux feuilles carpellaires, se trouve une fausse cloison. Le fruit est composé d'un épiderme à cuticule épaisse, d'un tissu fondamental dont une partie est verte, une autre incolore, ainsi que de nombreux faisceaux libéro-ligneux. Les jeunes graines sont attachées aux sutures marginales des feuilles carpellaires. En traitant ces sections transversales par une solution d'hydrate de chloral et une solution iodo-iodurée, on remarque que les tissus du fruit et de la graine contiennent une grande quantité d'amidon.

On sait que l'hypanthe des poires mûres est très riche en sucre. Comme ce fruit ne contient que peu de chlorophylle, la plupart des substances que nécessitent son développement et la production du sucre déposé dans les tissus de l'hypanthe doivent donc lui être fournies. Le pédicelle des fruits permet le passage des substances plastiques; certains tissus de cet organe contiennent, en effet, de grandes quantités d'amidon. Si on pratique des sections transversales dans des pédicelles de poires (mes observations étaient faites le 8 juin, par exemple), on aperçoit immédiatement, même sous un faible grossissement, le cercle des faisceaux libéro-ligneux qui sépare l'écorce de la moelle. Le liber de ces

faisceaux est recouvert extérieurement d'un amas épais de fibres libériennes, sur lequel s'applique directement une assise cellulaire (gaine amylifère), dont les éléments laissent apercevoir la présence d'une grande quantité d'amidon, qui doit être nécessairement considéré comme matière plastique. Dans le parenchyme de l'hypanthe des poires, je n'ai rencontré que peu d'amidon au 8 juin; il ne s'en trouvait que dans quelques cellules isolées; ce qui prouve évidemment que l'amidon est très rapidement employé. A un stade de développement moins avancé encore (au 2 mai), je n'ai même pu relever la présence d'amidon dans les cellules, en traitant de minces sections transversales de l'hypanthe par l'hydrate de chloral et la solution iodurée d'iode.

Lorsqu'on enlève les sépales et les pétales d'une fleur de *Phaseolus* pour utiliser le restant de la fleur à la confection de coupes, on aperçoit un ovaire monomère entouré d'un tube staminal fendu. Chez les *Phaseolus* et beaucoup d'autres papilionacées, des 10 étamines, il y en a 9 qui se soudent et une qui reste libre. L'ovaire porte les ovules sur son placenta. D'après Sachs (1), on constaterait pendant la maturation des fruits et des graines de *Phaseolus* (*P. vulgaris*) les particularités que nous allons indiquer.

Immédiatement après la défloraison, on ne trouve d'amidon ni dans les cellules de la couche extérieure, verte, de l'ovaire, ni dans celles de la couche intérieure, incolore. Il ne s'en rencontre, et en légère quantité, qu'au voisinage immédiat des faisceaux libéro-ligneux des sutures ventrale et dorsale. Le sac embryonnaire ne renferme pas d'amidon (probablement par suite de sa rapide utilisation). Mais il s'en trouve dans le voisinage du sac embyonnaire et dans le parenchyme du funicule. Lorsque le fruit a atteint une longueur de 3 cm., la couche extérieure, verte, de l'ovaire renferme de l'amidon, mais la couche intérieure, incolore, qui en est dépourvue, contient au contraire beaucoup de sucre. Dans le funicule et dans le voisinage immédiat du sac embryonnaire, on aperçoit de l'amidon. L'embryon, encore très petit, ne contient pas non plus d'amidon. Avec les progrès du développement des fruits et des graines, la quantité d'amidon augmente (mais il ne se forme pas de sucre) dans le parenchyme du funicule, qui joue le rôle d'organe conducteur, et l'amidon s'accumule petit à petit dans les cotylédons de l'embryon en voie de croissance.

J'ai eu l'occasion de constater, dans certains cas, l'absence d'amidon et de sucre (probablement par suite d'une croissance très active des cellules) tant dans le sac embryonnaire que dans les tissus du nucelle et du funicule. J'ai examiné, le 4 mai, des fleurs de *Tulipa sylvestris* et, dans les cellules des ovules anatropes, très nombreux de l'ovaire triloculaire, j'ai trouvé de grandes quantités d'albumine, mais point d'amidon ni de glucose.

(1) Voy. Sachs, *Jahrbücher f. wissenschl. Botanik* de Pringsheim, vol. 3, p. 231.

128. Manière d'obtenir les matériaux d'étude nécessaires pour les recherches d'analyse quantitative sur les transformations chimiques.

Le choix de matériaux convenables constitue la tâche la plus importante, mais en même temps la plus difficile et la plus longue, dans les recherches d'analyse quantitative sur les transformations chimiques que présente l'organisme végétal. Ce sont les germinations qui conviennent le mieux pour ce genre d'observations, pour étudier la fonction des matières grasses et amylacées, par exemple. On cherchera d'abord à se procurer des graines ayant toutes la même conformation et un grand pouvoir germinatif, puis on déterminera leur poids à l'état de siccité; et, pour obtenir une valeur moyenne, on dessèchera à 100° C. plusieurs prises d'essai de ces graines, réduites en poudre à l'aide d'un petit moulin. On pourra ramener ainsi toutes les données fournies par les recherches sur les graines à leur poids à l'état sec.

Les graines que l'on fait germer doivent être exactement pesées; il est alors facile de calculer leur poids en matières sèches. Le gonflement des graines, la culture des plantules et la détermination du poids sec de ces dernières, s'effectueront par le même procédé que celui qui a été indiqué lorsqu'il s'est agi de résoudre expérimentalement la question de l'utilisation par les plantes de l'azote libre de l'air atmosphérique. Il est clair que les germinations devront se développer en l'absence complète de lumière, dans une armoire, par exemple, mais il n'est pas nécessaire qu'elles accomplissent leur développement sous des cloches en verre.

La plus sérieuse difficulté dans ces expériences consiste à obtenir des plantules de même conformation. Lorsqu'on fait germer un certain nombre de graines, il arrive fréquemment que certaines germinations se développent vigoureusement, alors que d'autres croissent faiblement, ou même que quelques graines ne germent pas du tout et pourrissent. En expérimentant avec certaines graines (de froment ou de pois, par exemple), on obtiendra dans de nombreuses cultures des germinations d'un aspect satisfaisant et chez lesquelles, par conséquent, toutes les graines employées auront donné des germinations à peu près de même conformation; c'est là, comme bien on le pense, un caractère favorable. Si on expérimente sur de petites graines (colza, pavot), qui germent le mieux lorsqu'on les dépose, gonflées, sur des plaques de pierre ponce placées dans l'eau, sur du papier à filtrer humide ou sur de la laine de verre mouillée, il est nécessaire de compter les graines, de calculer le poids moyen d'une graine, de compter les graines qui n'ont point germé et de soustraire le poids primitif de ces dernières du poids que possédait au début la quantité de graines employée. S'il n'y a point un nombre trop grand de graines qui germent mal ou ne germent pas, l'erreur d'expérimentation n'est

pas très considérable. Dans les recherches effectuées avec des graines de grandes dimensions (fèves), il est nécessaire de traiter chaque graine séparément. Chaque graine, pesée à part, germera, après s'être gonflée, sur de la laine de verre mouillée, puis chaque germination se développera dans un vase particulier, contenant de l'eau distillée, comme dans la méthode de culture dans l'eau (voy. § 1). En effectuant ces travaux, on découvrira aisément soi-même diverses petites règles de précaution qu'il importe de ne pas négliger afin d'obtenir des germinations qui puissent être employées.

Lorsqu'il s'agira de faire une étude comparée du rapport existant entre les transformations chimiques et la température, les graines, évidemment, seront portées dans un thermostat (voy. § 76) pour y germer à divers degrés de température.

129. Recherches d'analyse quantitative sur le rôle des matières grasses et des hydrates de carbone dans les transformations chimiques des végétaux.

L'étude des phénomènes qui se produisent pendant la germination des graines convient très bien pour montrer le rôle des matières grasses et des hydrates de carbone dans les transformations chimiques. Nous cherchons d'abord la composition centésimale des graines et celle des produits de leurs germinations, de la façon qui a été indiquée dans le § 128. Puis, pour obtenir des nombres comparables, nous rapporterons les données fournies par ces recherches à 100 gr. de matière sèche des graines et au poids de matières sèches des germinations qui proviennent de 100 gr. de graines à l'état de siccité. Si 100 gr. de substance des graines donnent, par exemple, 90 gr. de substance de germinations, les valeurs trouvées pour la composition centésimale des germinations devront être rapportées à 90 gr. L'analyse des graines et des germinations sera effectuée de la façon que nous allons indiquer.

Pour doser les graisses, on traite par l'éther, de la façon indiquée dans le § 120, 3 gr. environ de matière sèche provenant des graines ou des germinations. Le résidu, après le dosage des matières grasses, sera mis plusieurs fois à digérer pendant quelque temps avec de l'eau à la température ordinaire; puis, après avoir filtré, on diluera le filtrat jusqu'à 200 c. c. On se servira alors de 50 c. c. du filtrat pour doser le sucre (voy. § 115) et aussi de 50 c. c. pour doser la dextrine, mais cette fois après avoir fait bouillir le liquide avec une légère quantité d'acide sulfurique (voy. § 116).

Le résidu épuisé par l'eau ou, mieux, 3 gr. environ de substance provenant des graines et des germinations (ce n'est que dans les graines ou les plantules très oléagineuses qu'on enlèvera d'abord les matières

grasses) seront versés avec 200 c. c. d'eau dans un ballon d'une capacité de 500 c. c. Puis le mélange sera porté à l'ébullition, jusqu'à ce que tout l'amidon soit transformé en empois. Le liquide sera alors mis à digérer pendant 2 heures encore à une température de 70° C., après avoir été additionné de quelques gouttes d'acide chlorhydrique. Il sera alors dilué jusqu'à 500 c. c.; puis, après l'avoir laissé reposer, on en retirera 200 c. c. au moyen d'un filtre non mouillé. Le filtrat sera mélangé de 15 c. c. d'acide chlorhydrique à 25 0/0, bouilli pendant 3 heures, en ayant soin de remplacer l'eau au fur et à mesure qu'elle s'évapore, et étendu, après refroidissement, jusqu'à 200 c. c. A l'aide de la liqueur de Fehling, on dosera le sucre dans 50 c. c. du liquide; ce qui permettra de calculer la teneur en amidon (voy. § 111).

Le restant sera porté à l'ébullition pendant une demi-heure avec 200 c. c. d'une solution de potasse à 1 0/0, puis filtré, et le précipité, recueilli sur le filtre, porté à l'ébullition pendant une demi-heure dans 200 c. c. d'eau. La portion non dissoute du précipité sera recueillie sur un filtre taré, lavée à l'alcool et à l'éther, puis desséchée et pesée. Il faudra soustraire de la quantité obtenue de cellulose, le poids de cendres qu'elle renferme ainsi que celui des matières albuminoïdes.

Des prises d'essai spéciales de la matière sèche des graines et des germinations serviront à évaluer sa teneur en cendres. Il faudra déterminer aussi le poids des matières albuminoïdes qui existent dans les graines et les germinations, et, éventuellement, le poids d'asparagine.

En calculant la composition centésimale des graines et des germinations en se basant sur les résultats de ces recherches, on constate toujours l'existence d'un reste qui n'est point négligeable. La quantité des « matières indéterminées » devra donc être indiquée.

J'ai eu l'occasion, en un autre endroit (1), de faire ressortir l'importance des recherches d'analyse quantitative pour l'étude des transformations chimiques dans les plantes. Je me bornerai à rappeler ici qu'à l'aide d'analyses quantitatives on a pu montrer, par exemple, la relation qui existe entre les quantités d'amidon qui se dissolvent pendant les transformations chimiques des organismes et le poids de matière sèche qui disparaît, la quantité de sucre qui se forme dans certaines conditions, la valeur du résidu d'amidon après la germination des graines oléagineuses lorsqu'une certaine quantité de matières grasses a disparu, etc., etc. Toutes ces questions sont d'un grand intérêt au point de vue scientifique (2).

(1) Voy. Detmer, *Vergl. Physiologie d. Keimungsprocesses der Samen*, 1880.

(2) Pour ce qui concerne la bibliographie, outre l'ouvrage qui vient d'être cité, voy. Detmer, *Physiol. Untersuchungen über die Keimung ölhaltiger Samen und die Vegetation v. Zea Mays*, 1875; Detmer, in *Forschungen auf d. Gebiete d. Agriculturphysik*, vol. 2, et Sachsse, *Ueber einige chem. Vorgänge bei d. Keimung v. Pisum sativum*, 1872.

IV. LES PRODUITS ACCESSOIRES DES TRANSFORMATIONS CHIMIQUES DANS LES VÉGÉTAUX.

130. Les acides organiques des plantes.

Les acides organiques des plantes ne doivent pas être considérés comme des produits de l'assimilation. Ils proviennent ordinairement, au contraire, de l'oxydation des hydrates de carbone. Les acides organiques formés dans les plantes existent à l'état libre dans le suc cellulaire (acides oxalique, citrique, malique, etc.), ou bien en combinaison avec des bases, à l'état de sels neutres ou acides, facilement ou très difficilement solubles dans les cellules. Les sucs du parenchyme contiennent très généralement des quantités plus ou moins importantes d'acides organiques libres ou de leurs sels acides, et il est facile de s'assurer de ce fait en portant une surface fraîche de section d'un organe végétal quelconque sur un morceau de papier de tournesol bleu. L'apparition d'une coloration rouge indiquera la présence d'un acide. Dans un grand nombre de cas, le caractère acide des sucs végétaux se révèle par leur saveur.

Les acides libres, ainsi que les sels acides, remplissent des fonctions très diverses dans les cellules, et nous avons déjà eu l'occasion d'en montrer quelques-unes. Les acides augmentent la turgescence du contenu cellulaire d'une façon très sensible; ils favorisent la transformation de l'amidon sous l'action de la diastase; ils servent dans certaines plantes de moyen de défense contre les animaux nuisibles; ils décomposent les nitrates enlevés au sol par les racines, phénomène d'une grande importance pour la formation des matières albuminoïdes; ils fixent l'excès de chaux absorbé par les plantes et ils décomposent les chlorures dans les organismes végétaux, en mettant de l'acide chlorhydrique en liberté.

L'acide oxalique est très répandu dans le règne végétal. On le rencontre, soit à l'état libre, soit à l'état de sels acides solubles dans le suc cellulaire et alors, extrêmement souvent, en combinaison avec la chaux. Les cristaux d'oxalate de chaux se déposent dans des cellules spéciales. Nous avons déjà eu l'occasion de signaler leur existence (voy. § 22). Nous donnerons ici de nouveaux exemples.

Nous pratiquerons une section longitudinale perpendiculairement à la surface d'une feuille d'*Aloe arborescens*. L'épiderme, le parenchyme vert et le tissu aquifère sans chlorophylle sont faciles à distinguer au microscope. Dans le tissu vert, nous trouvons des cellules utriformes, allongées parallèlement à l'axe longitudinal de la feuille, complètement remplies d'une grande quantité d'aiguilles cristallines

d'oxalate de chaux. Ces paquets de raphides sont englobés dans le contenu gélatineux des cellules. Les masses gélatineuses et les raphides s'échappent souvent des cellules, lorsqu'on vient à déchirer accidentellement une cellule cristalligène en pratiquant les coupes, de sorte que l'on peut parfois observer ces matières gélatineuses ainsi que les raphides dans le liquide entourant les matériaux d'étude. Si on traite les coupes par la potasse ou l'acide acétique, on remarque que les raphides ne se dissolvent pas. Nous pratiquons ensuite des sections transversales dans une feuille de *Beta vulgaris*. A l'examen microscopique, on aperçoit les lames épidermiques des faces supérieure et inférieure, un parenchyme palissadique peu distinct et un parenchyme lacuneux, bien net, riche en espaces intercellulaires. Dans ce dernier se rencontrent les cellules appelées par les Allemands « *Körnchenschlaüche* » complètement remplies de petits cristaux octaédriques d'oxalate de chaux. Nous pratiquerons aussi une section transversale dans un rameau de *Tilia parvifolia* d'une épaisseur de 5 mm. environ. Cette section a déjà été décrite dans le § 39, mais un fait mérite encore d'attirer notre attention, c'est la présence, dans la partie extérieure des rayons médullaires ainsi que dans le tissu cortical primaire, d'un grand nombre de cellules renfermant des mâcles d'oxalate de chaux.

Quelques plantes, surtout parmi les crassulacées (par exemple *Sempervivum, Echeveria*, *Bryophyllum*), se distinguent par la présence dans leur sève d'une quantité considérable d'acide malique qui est en majeure partie uni à la chaux, comme Kraus (1) l'a spécialement démontré. Le malate dissous dans le suc cellulaire représente parfois 50 % du poids sec du suc des feuilles chez ces plantes. Nous écrasons quelques feuilles de *Bryophyllum* dans un mortier, nous portons la bouillie obtenue sur un filtre sec, nous déterminons dans une petite portion du liquide obtenu la teneur en matière sèche, et nous mélangeons le reste du liquide avec 4 à 5 fois son volume d'alcool à 96 %. Le malate se sépare en formant un précipité blanc, pulvérulent, que l'on peut recueillir par filtration, dessécher et doser.

Il est actuellement très souvent nécessaire en physiologie végétale d'établir le degré d'acidité des sucs végétaux, c'est-à-dire leur richesse en acides susceptibles d'être soumis au titrage. Il y aura lieu, suivant les cas, d'employer des méthodes différentes. Nous allons nous occuper de ces méthodes. Il s'agira d'abord de retirer des plantes les sucs ou les extraits dont on veut examiner l'acidité. Dans des recherches comparatives, lorsqu'il s'agira seulement d'obtenir pour l'acidité des valeurs relatives, les matériaux d'étude contenant beaucoup d'eau, des pétioles de *Rheum*, par exemple, seront rapés; les organes végétaux contenant peu d'eau seront découpés en morceaux et broyés aussi complètement que possible dans un mortier en porcelaine. La masse broyée

(1) Voy. G. Kraus, *Abhandlungen d. naturforschenden Gesellschaft zu Halle*, vol. 16.

sera pressée dans une toile en exerçant des pressions très uniformes avec les doigts ou à l'aide d'une presse. Le liquide obtenu sera clarifié par filtration. Dans certains cas, il sera nécessaire d'ajouter une légère quantité d'eau au liquide avant de le filtrer. Lorsqu'il s'agira d'obtenir des valeurs absolues pour l'acidité des organes végétaux, on les écrasera, après les avoir pesés, puis la masse broyée, additionnée d'une légère quantité d'eau, sera chauffée au bain-marie pendant 1/2 heure dans des vases en verre à parois épaisses sous une température comprise entre 80 et 90° C., au maximum, portée ensuite sur un filtre et lavée avec aussi peu d'eau chaude que possible. Pour les recherches sur le rôle des acides organiques libres dans l'organisme des crassulacées (voy. § 131), le meilleur procédé consistera à broyer dans un mortier, après les avoir pesées, les feuilles qui serviront de matériaux d'étude, puis à chauffer la masse broyée, pendant une 1/2 heure au bain-marie, entre 80 et 90° C., au maximum, après l'avoir lavée avec la plus petite quantité d'eau nécessaire, et, enfin, à la porter de nouveau dans le mortier avec une petite quantité d'eau de lavage pour effectuer le titrage immédiatement après son refroidissement.

Pour le titrage des sucs, des extraits ou des masses broyées, on emploiera des solutions étendues de potasse ou de soude. On dissoudra 1 gramme de potasse ou de soude caustique dans 1,000 c. c. d'eau; puis, si l'on veut procéder très soigneusement, on ajoutera de la chaux éteinte qui se combinera après un certain temps avec l'acide carbonique de la solution et on conservera le liquide clair, soutiré à l'aide d'un siphon, dans des vases bien fermés. Pour effectuer le titrage, on laissera écouler d'une burette la solution de potasse ou de soude dans les sucs acides, les extraits ou la masse broyée contenant des acides, et, quand il s'agira de liquides très clairs, on se servira, comme indicateur, de 3 à 5 gouttes d'une solution alcoolique étendue de phénolphtaléine. Autrement, surtout pour le titrage des acides dans les masses broyées, on fera usage de papier de curcuma. Dans des recherches comparatives, il n'est point du tout nécessaire d'établir le titre des solutions de potasse ou de soude. Mais si cette détermination devait être faite, on préparerait une solution normale d'un acide, c'est-à-dire une solution qui, sur 1,000 c. c., contiendrait un équivalent, exprimé en gr., d'un acide monobasique. En employant l'acide oxalique ($C^2 H^2 O^4 + H^2O = 126$), on dissoudrait 63 gr. d'acide pur dans 1,000 c. c. d'eau. A l'aide de cette solution, il serait facile d'obtenir le titre de la solution de potasse ou de soude (1).

(1) Pour ce qui concerne les méthodes de titrage, voy. Mohr, *Lehrbuch d. analytisch-chem. Titrirmethode.*

131. Les acides organiques libres dans l'organisme des crassulacées et de quelques autres plantes.

Dans un grand nombre de crassulacées et d'autres plantes (surtout chez les végétaux succulents), on observe ce phénomène remarquable que la teneur en acides organiques libres (nous avons notamment affaire alors à l'acide malique) est beaucoup moindre pendant le jour que pendant la nuit. Ce phénomène, extrêmement compliqué, n'a pas encore été complètement élucidé. Cependant quelques faits ont été établis et nous aurons plus tard à les montrer expérimentalement. J'aurai d'abord à exposer, très brièvement, l'opinion que je me suis formée au sujet du rôle des acides organiques dans les crasssulacées en m'appuyant sur les recherches effectuées (1). Dans les tissus des crassulacées et de quelques autres plantes (surtout dans les tissus foliaires), on observe, d'une manière continue et en toute circonstance, deux phénomènes s'effectuant conjointement d'une importance considérable pour le degré d'acidité de leur sève : d'une part, une production ininterrompue d'acide ; d'autre part, une décomposition incessante. La teneur en acide sera, par conséquent, à chaque instant la résultante de ces deux phénomènes (2).

Fait d'une grande importance, des quantités considérables d'acides libres peuvent dans certains cas s'accumuler très rapidement dans les cellules des crassulacées. Il n'est pas douteux que ce phénomène n'ait une signification pour la physiologie de ces organismes. Ceux-ci croissent généralement dans des endroits secs et, souvent, très riches en calcaire. Ils doivent, par conséquent, pouvoir augmenter les propriétés osmotiques du contenu de leurs cellules afin d'amasser de l'eau dans leurs tissus, et permettre, en même temps, la combinaison de l'excès de chaux des cellules, soutiré du sol par les racines. Les acides organiques remplissent ces deux rôles.

Les acides se forment par l'action de l'oxygène sur les hydrates de carbone. Ils proviennent de l'oxydation des produits de l'assimilation.

(1) Bibliographie : A. Mayer, *Landwirthschaftl. Versuchsstationen*, vol. 18 et 21 ; Detmer, *Jahrbücher* de Pringsheim, vol. 12, et *Lehrbuch d. Pflanzenphysiologie*, 1883 ; H. de Vries, *Verslagen en Mededeelingen der Konikl. Akadem. van Wettenschappen*, 1884 ; G. Kraus, *Abhandlungen d. naturforschenden Gesellsch. zu Halle*, vol. 16 ; Warburg, *Untersuchungen aus d. botan. Institut zu Tübingen*, vol. 2. Les opinions que j'ai émises dans les travaux que je viens de citer diffèrent sensiblement de celles qui vont être exposées.

(2) Dans les tissus des crassulacées, outre une décomposition des acides organiques libres, on remarque encore d'une façon continue une combinaison des acides avec des bases (Kraus). Il en résulte une accumulation progressive dans les cellules de grandes quantités de certains sels. La formation de ces combinaisons, sur lesquelles nous ne nous étendrons pas plus longuement, n'est évidemment pas non plus sans importance sur le degré d'acidité de la sève des crassulacées.

L'accumulation de quantités aussi considérables d'acides dans les tissus des plantes grasses provient de la structure de ces plantes. Les plantes grasses ne peuvent entretenir avec l'extérieur qu'un échange gazeux très restreint, à cause de leur épaisse cuticule, de leur tissu charnu et du nombre relativement minime de leurs stomates. Il en résulte que leurs cellules n'ont pas de l'oxygène en grande quantité et que la combustion des hydrates de carbone reste incomplète. Dans certaines circonstances, au moins, comme cette combustion ne va pas jusqu'à produire de l'anhydride carbonique et de l'eau, des quantités considérables d'acides organiques, produits d'une combustion incomplète, vont pouvoir se déposer.

Le phénomène de la décomposition des acides, qui s'observe d'une façon continue dans les tissus des crassulacées, et conjointement avec celui de la production d'acides, s'effectue avec une énergie qui dépend beaucoup des conditions de température et d'éclairage. Une élévation de température et une augmentation de lumière favorisent d'une manière très considérable la décomposition des acides. Quand les plantes seront exposées dans l'ombre à une haute température ou lorsqu'elles seront soumises à l'action de la lumière, on constatera donc une diminution d'acidité des tissus des crassulacées. Dans l'obscurité — surtout sous une basse température — on observera au contraire une augmentation d'acidité dans la sève des crassulacées. Nous savons, en effet, que l'acidité de la sève des crassulacées est assujettie à l'alternance du jour et la nuit; la sève, qui possède pendant le jour une réaction légèrement acide, devient fortement acide pendant la nuit.

La décomposition des acides doit toujours être attribuée à un phénomène d'oxydation accompagné d'un dégagement d'anhydride carbonique. L'acide formé par oxydation, étant complètement brûlé, il y aura lieu de rechercher, notamment, comment les rayons lumineux peuvent exercer une action favorable sur ce phénomène. On a déjà eu l'occasion de dire que les crassulacées, pour diverses causes, ne pouvaient entretenir qu'un échange gazeux restreint. Ce fait est d'une grande importance pour le dépôt d'une quantité considérable d'acide. A l'obscurité, il y a, évidemment, manque d'oxygène dans les tissus des crassulacées; la lumière, au contraire, augmente d'une façon considérable la teneur en oxygène des tissus, parce que l'assimilation met de l'oxygène en liberté. Les corps chlorophylliens, en train d'assimiler, ne participent donc pas directement à la décomposition des acides, mais bien d'une façon indirecte, en déterminant la formation dans les tissus des crassulacées de grandes quantités d'oxygène qui produiront, à leur tour, une combustion complète des acides. L'anhydride carbonique alors formé pourra être de nouveau décomposé par les corps chlorophylliens, et l'oxygène mis en liberté favorisera la décomposition des acides.

Les relations qui viennent d'être indiquées sont celles dont on doit le plus tenir compte lorsque la décomposition des acides va en augmentant; elles permettent seules d'expliquer pourquoi la décomposition des acides est favorisée par l'action de la lumière. Mais il me paraît vraisemblable que les rayons lumineux sont alors employés directement aussi. Nous relaterons plus loin des expériences dont les résultats prouvent que la lumière peut même favoriser l'oxydation des acides organiques en dehors de l'organisme. Il est donc fort admissible que les rayons lumineux exercent également une influence directe sur la décomposition des acides dans les cellules végétales.

On sait que les organes des plantes grasses lorsqu'ils séjournent pendant quelque temps (pendant une nuit, par exemple) dans un volume limité d'air, le diminuent. La formation d'acides organiques réclame de l'oxygène. En expirant de l'oxygène, les mêmes organes végétaux augmentent au contraire pendant le jour la quantité d'air qui les entoure. Cet oxygène ne provient pas directement des molécules d'acides organiques en voie de décomposition, mais il constitue un produit de l'activité assimilatrice des corps chlorophylliens. L'anhydride carbonique nécessaire est sans doute fourni, de la façon expliquée plus haut, par les acides organiques en voie de décomposition.

Nous aurons maintenant à montrer comment s'effectuent les expériences nous permettant de nous rendre compte du rôle des acides dans l'organisme des crassulacées.

Comme matériaux d'étude, nous emploierons des exemplaires robustes de *Bryophyllum calycinum*, d'*Echeveria metallica* ou de *Rochea falcata* (cette dernière plante est particulièrement recommandable) cultivés en pots dans des conditions extérieures favorables. Pour des recherches comparatives sur l'accumulation d'acides ou sur la disparition d'acides dans les tissus des feuilles, on prendra une paire de feuilles opposées (de *Rochea*, par exemple), ou on expérimentera sur une feuille unique (d'*Echeveria metallica*, par exemple) que l'on divisera suivant sa longueur en deux parties aussi semblables que possible. Les matériaux d'étude seront pesés dès qu'ils auront été enlevés à la plante. Lorsqu'il ne s'agira point de déterminer immédiatement leur teneur en acides libres, mais seulement au bout de quelque temps, on déposera, par exemple, les feuilles sur du papier à filtrer mouillé sous des cloches en verre. La teneur en acides des feuilles s'obtiendra par titrage. La quantité de potasse employée pour ce titrage donnera la mesure exacte de l'acidité du suc cellulaire des matériaux d'étude (pour la méthode, voy. le § 130).

Nous effectuerons d'abord l'expérience qui va suivre. Dans la soirée, vers 5 ou 6 heures, nous cueillerons deux feuilles opposées d'un *Rochea* ayant été exposé à la lumière directe du soleil pendant toute la journée. Si on expérimentait sur le *Bryophyllum*, on enlèverait quelques

verticilles de la plante, et dans des recherches sur l'*Echeveria*, on n'emploierait qu'une grande feuille. On effectue aussitôt une recherche acidimétrique sur la moitié des matériaux d'étude; l'autre moitié ne sera utilisée que le lendemain matin, après que les feuilles auront séjourné jusque-là en l'absence complète de lumière dans une atmosphère humide sous une cloche de verre. J'avais trouvé, par exemple, que les deux feuilles d'un même nœud de *Rochea falcata* pesaient, l'une (*a*) 12 gr. 6, l'autre (*b*) 13 gr. 6. On avait examiné *a* le soir même où on l'avait cueillie; *b*, le lendemain matin. La feuille *a*, broyée, avait nécessité 2, 6 c. c. d'une solution étendue de potasse pour être neutralisée; *b*, 12, 5 c. c. Pour 10 gr. de substance foliaire, il fallait donc pour *a*, 2, 1 c. c. de potasse; pour *b*, 9, 2 c. c; d'où une différence de 7, 1 c. c. Nous aurions pu procéder aussi d'une autre façon. Nous ne cueillerions qu'une feuille le soir, pour en examiner immédiatement sa teneur en acide, et nous n'enlèverions l'autre feuille que le lendemain matin, après l'avoir fait séjourner jusqu'alors dans une obscurité complète. Les expériences montreront toujours une acidité beaucoup plus forte dans le suc des feuilles qui ont séjourné quelque temps dans l'obscurité.

Pour s'assurer que l'acidité de la sève des crassulacées diminue sous l'action de la lumière et augmente dans l'obscurité, il sera nécessaire de faire l'expérience que nous allons indiquer. Deux feuilles opposées de *Rochea* sont cueillies de grand matin. Une des feuilles est coupée en deux suivant sa longueur, et, dans l'une des moitiés, après l'avoir pesée, on détermine par titrage l'acidité de son suc cellulaire. L'autre moitié est suspendue sous une cloche de verre dans une atmosphère saturée de vapeur d'eau, et plongée dans l'obscurité à l'aide d'un cylindre en carton. La seconde feuille est placée aussi sous une cloche de verre dans une atmosphère saturée de vapeur d'eau, mais exposée à l'action de la lumière diffuse très vive du jour, et de telle manière que la partie postérieure de la feuille reçoive aussi de la lumière, réfléchie au moyen d'un miroir disposé d'une façon déterminée. Dans cette expérience, les matériaux d'étude sont soumis à peu près à la même température; ce qui empêchera une augmentation d'acidité sous l'action de la chaleur. Si on examine, le soir, l'acidité des moitiés de feuilles et de la feuille restée intacte, on trouvera que celles-là sont plus acides que celle-ci (en les rapportant naturellement aux mêmes quantités en poids de substance foliaire fraîche). Il est facile de montrer l'influence considérable qu'exerce la température sur la décomposition des acides dans les feuilles de crassulacées. On enlève de grand matin quelques feuilles riches en acides à des plantes qui avaient été jusqu'alors dans des conditions naturelles, puis on détermine directement l'acidité du suc chez certaines de ces feuilles, et on n'examine la teneur en acides libres des autres, qu'après les avoir fait séjourner en l'absence complète de lumière pendant 12 heures environ, les unes dans un thermostat à 30° C., les autres sous une basse température (12 à 16° C.,

par exemple). On constatera qu'une température élevée amène une forte acidité, malgré l'influence de l'obscurité.

Nous enlèverons vers la soirée une paire de feuilles opposées à un *Rochea* (on pourrait aussi expérimenter sur un *Echeveria* ou un *Bryophyllum*). Nous examinerons directement la teneur en acides libres d'une des feuilles, et l'autre feuille sera découpée suivant sa longueur. Chacune des moitiés, après avoir été pesée, sera découpée à son tour en petits morceaux d'un centimètre environ de longueur qui seront portés dans des cloches courbes, remplies d'eau distillée bouillie et complètement refroidie. Dans l'une des cloches, l'eau sera déplacée par de l'air; dans l'autre, par de l'hydrogène pur (pour le procédé à employer, voy. § 9, p. 29). Le lendemain matin, nous déterminerons la teneur en acides des matériaux d'étude et nous verrons que les fragments de feuilles ont produit beaucoup d'acides libres dans l'air, tandis qu'il ne s'en est formé que de petites quantités, tout au plus, dans l'hydrogène. Il en résulte que la production d'acides nécessite de l'oxygène libre.

Nous avons déjà dit que la lumière jouissait de la propriété de favoriser la décomposition des acides organiques en dehors de l'organisme, fait qui doit certainement posséder, comme nous l'avons fait remarquer, une signification pour les questions qui nous occupent. Nous observerons aisément l'influence de la lumière sur la décomposition des acides (même pendant une leçon) en remplissant complètement un tube à réactions d'une solution d'acide oxalique à 0, 2 d'équiv., puis en ajoutant à ce liquide une petite quantité d'hydrate ferrique (préparée par le mélange d'une solution de chlorure de fer avec de l'ammoniaque et un lavage minutieux du précipité), et en exposant alors sur le mercure à la lumière solaire directe le liquide devenu d'un jaune intense au bout de quelque temps dans le tube d'essai. Un dégagement de gaz se produira immédiatement. Celui-ci (de l'anhydride carbonique) s'accumulera dans la partie supérieure de l'appareil, tandis que le liquide se décolorera en donnant un précipité d'oxalate ferreux. Il n'est pas impossible que l'oxydation des acides organiques dans la plante ne soit produite également par l'action directe des rayons lumineux.

Enfin, montrons encore par des expériences que les organes des plantes grasses, comme on l'a déjà indiqué, absorbent en réalité beaucoup d'oxygène lorsqu'il se produit une accumulation d'acides dans leurs cellules. Pour les démonstrations de cours, il suffira d'effectuer l'expérience de la façon qui va suivre. Pendant une soirée d'une chaude journée d'été, nous cueillerons une feuille de *Rochea falcata* (cette feuille, dans mes expériences, possédait un poids de 24 gr.), puis nous la découperons en fragments que nous introduirons dans la partie supérieure élargie de l'eudiomètre décrit dans le § 13, fig. 14. Après avoir plongé la partie inférieure du tube dans l'eau, nous fermerons l'appareil, que nous placerons ensuite dans l'obscurité. Longtemps après (au bout de 12 heures, par exemple), nous remarquerons que l'eau s'est

considérablement élevée dans le tube, alors que ce n'est point le cas dans une expérience de contrôle, effectuée en introduisant dans un second eudiomètre des fragments de jeunes tiges de végétaux n'appartenant pas à la catégorie des plantes grasses (d'*Helianthus*, par exemple). Les fragments de feuilles de *Rochea* possèdent non seulement une respiration normale, mais encore une respiration intramoléculaire. Ils absorbent une grande quantité d'oxygène, pour transformer leurs hydrates de carbone en acides organiques, sans dégagement proportionné d'anhydride carbonique.

Dans des recherches précises d'analyse quantitative sur l'inspiration d'oxygène par les plantes grasses, on devra naturellement employer le mercure comme liquide dans l'eudiomètre, et effectuer les expériences en s'inspirant d'une façon générale de ce qui a été indiqué dans les §§ 13 et 105.

132. Les gommes et mucilages végétaux.

La gomme arabique (retirée de divers *Acacia*) est composée principalement d'acide arabique. Lorsqu'on traite, dans un verre de montre, une légère quantité de gomme arabique par une solution iodurée d'iode, et qu'on ajoute ensuite de l'acide sulfurique, la masse prend seulement une coloration brune. Toutes les vraies gommes se comportent de cette manière, tandis que les mucilages se colorent en violet ou en bleu par l'action de l'iode et de l'acide sulfurique. Les recherches de Mohl ont démontré que la gomme adragante provient de la désorganisation des cellules de la moelle et des rayons médullaires de divers *Astragalus*. La gomme adragante n'est pas un produit homogène, comme il est aisé de s'en assurer en traitant par une grande quantité d'eau la gomme du commerce pulvérisée. Il se forme alors une dissolution, qui donne après évaporation une masse vitreuse, incolore, qui est la véritable gomme adragante, et il se produit un dépôt qui, à l'examen microscopique, se montre constitué par des grains d'amidon et des fragments de membranes cellulaires. La richesse en membranes cellulaires, qui ne sont point complètement transformées en matières gommeuses, est très différente suivant les variétés de gommes adragantes.

Si on examine au microscope une section transversale pratiquée dans un tubercule d'*Orchis mascula* ou d'*O. Morio*, on observe que le parenchyme, dans lequel les faisceaux libéro-ligneux sont distribués, se compose de petites cellules amylifères et de grandes cellules très riches en mucilage. En traitant par l'eau froide des tubercules d'orchidées pulvérisés ou du salep du commerce, on obtient, après filtration, un liquide clair qui donne par l'addition d'alcool un précipité blanc, floconneux de mucilage d'orchidées, insoluble dans l'alcool. Si on évapore la solution mucilagineuse obtenue de la façon qui vient d'être indiquée, et

qu'on traite le résidu par l'iode ioduré et l'acide sulfurique, il se colorera en violet, puis en bleu. Les matières gélatineuses des tubercules d'orchidées ne représentent donc point des gommes, mais de véritables mucilages (1).

133. Les tannins.

Les tannins paraissent avoir pour principale fonction de protéger les plantes contre les atteintes des animaux et de remplir le rôle de substances antiseptiques. Ce qui semble confirmer ce fait, c'est que les tissus périphériques, dans un très grand nombre de plantes, sont particulièrement riches en tannins. Le meilleur réactif du tannin est le bichromate de potassium (2). Nous chercherons, à l'aide de ce réactif, à nous rendre compte, par exemple, de la localisation du tannin dans les tissus des rameaux de *Corylus Avellana*. Et, pour en connaître la structure générale, nous pratiquerons d'abord une section transversale dans un rameau de 4 mm. environ de diamètre. Au périderme fait suite un collenchyme, puis un parenchyme cortical, ensuite un anneau de cellules scléreuses fortement épaissies, enfin le liber parsemé de fibres libériennes et le bois. Si nous plaçons pendant quelques jours un morceau de rameau de *Corylus* coupé suivant sa longueur (j'ai examiné, en novembre, des rameaux de 4 mm. de diamètre) dans une solution à 10 % de bichromate de potassium, puis que nous en examinions au microscope des sections transversales minces, il sera facile de constater la présence de tannin dans certains tissus (notamment dans l'écorce, le parenchyme libérien et dans les rayons médullaires ligneux formés ordinairement d'une seule couche de cellules), car le contenu des cellules tannifères sera alors coloré en rouge-brun.

En examinant une section longitudinale pratiquée dans la moelle d'un rameau de rosier de l'année, on remarque qu'il se compose, d'une part, de grandes cellules, d'autre part, de files de cellules étirées longitudinalement placées bout à bout, traversant le tissu à grandes cellules. Si nous examinons des coupes de la moelle du rosier, déposées sur un porte-objet dans une goutte d'une solution aqueuse à 10 % de bichromate de potassium, nous observons que le contenu de la plupart des cellules étroites est coloré en rouge-brun. On peut aussi relever la présence du tannin dans les cellules étroites, en déposant des coupes de la moelle du rosier dans une goutte d'une solution aqueuse de chlorure ferrique ou dans une goutte d'une solution de sulfate ferrique. Le contenu des cellules tannifères se colore alors en bleu foncé. Les feuilles de rosier

(1) La bibliographie concernant les gommes et mucilages végétaux est donnée dans l'ouvrage de Sachsse, *Die Chemie und Physiologie der Farbstoffe, Kohlehydrate etc.*, Leipzick, 1877, p. 161.

(2) Voy. Sanio, *Botanische Zeitung*, 1863, p. 17.

sont aussi très riches en tannin, et pour démontrer ce fait dans le cours d'une leçon, par exemple, on écrase fortement, au moyen des doigts, dans du papier à filtrer, une feuille pliée de rosier, de manière que le suc qui s'échappe des cellules soit retenu par le papier à filtrer. En déposant aux endroits humides du papier une goutte d'une solution de chlorure ferrique, on fera apparaître la réaction du tannin.

134. Les huiles éthérées et les résines.

Dans un grand nombre de cas, les huiles éthérées doivent être considérées, non comme des produits d'excrétion, mais comme des substances sécrétées, auxquelles sont dévolues des fonctions physiologiques (attirer les animaux dont l'intervention est nécessaire pour le transport du pollen, éloigner les animaux nuisibles, etc.). De même, beaucoup de résines doivent être regardées comme des produits de sécrétion (1).

Les huiles éthérées se rencontrent fréquemment dans des espaces intercellulaires arrondis. Si nous examinons, par exemple, des sections transversales, non par trop minces, de la tige de *Ruta graveolens*, nous observons que l'épiderme est suivi d'un tissu hypodermique et celui-ci, d'un parenchyme vert. Dans ce dernier se montrent, çà et là, des lacunes remplies d'un liquide jaunâtre fort réfringent (l'huile éthérée). Les réservoirs intercellulaires remplis d'huile essentielle sont faciles à reconnaître sur une section transversale de la feuille de *Citrus*. L'alcool dissout les huiles essentielles.

Les huiles essentielles ne se présentent pas seulement renfermées dans les espaces intercellulaires des plantes, mais encore à l'intérieur des cellules. Chez l'*Aristolochia sipho* se rencontrent des réservoirs de ce genre et, plus spécialement, ceux qui appartiennent à la catégorie des outres courtes (*Kurzen Schläuche*) de de Bary, parce que les cellules en question sont à peu près isodiamétriques. Sur des sections transversales pratiquées sur une tige de cette plante, de 4 mm. environ de diamètre, il est facile de distinguer la moelle ainsi que les faisceaux libéro-ligneux avec leurs portions ligneuses et libériennes très développées. Les faisceaux sont plongés dans un tissu cortical parenchymateux, qu'entoure un anneau fermé de fibres scléreuses, qui, entre les faisceaux, fait légèrement saillie vers l'intérieur. Cet anneau est enveloppé d'un parenchyme vert, d'un collenchyme et d'un épiderme. En examinant des sections transversales et longitudinales de la tige d'*Aristolochia*, on observe dans le parenchyme cortical la présence de cellules à contenu jaunâtre, très réfringent, distribuées à l'extérieur et à l'intérieur de l'an-

(1) Voy. H. de Vries, *Landwirthschaftl. Jahrbücher*, vol. 10.

neau de fibres scléreuses, ce sont les glandes dont il s'agissait de montrer la présence.

Il est instructif aussi de montrer que les fruits d'un grand nombre d'ombellifères sont abondamment fournis d'huiles éthérées, localisées dans les espaces intercellulaires, et qui leur servent certainement de moyen de défense contre les animaux qui pourraient leur nuire. Nous pratiquons des sections transversales dans le fruit comprimé latéralement du *Carum carvi*. Chacune des deux portions du fruit contient un albumen au milieu duquel se trouve l'embryon. Nous enlevons ensuite les cinq côtes principales de chaque fruit; dans le tégument du fruit s'aperçoivent des stries huileuses qui représentent des espaces intercellulaires remplis d'une huile essentielle.

Pour étudier les canaux secréteurs, il convient d'employer des sections transversales très minces pratiquées dans des aiguilles de *Pinus sylvestris*. L'épiderme, à cellules fortement épaissies, est suivi d'une couche de cellules hypodermiques. Aux deux bords de la feuille, cette couche possède une épaisseur double. Les canaux secréteurs (il en existe toujours un grand nombre) sont contigus à la couche hypodermique. Chaque canal résineux est bordé par une couche de cellules à parois minces, l'épithélium, qui fournit indubitablement au canal les produits de sécrétion qu'il renferme, est entouré par une couche de fibres scléreuses fortement épaissies. On voit ensuite le tissu vert de la feuille et le tissu à peu près dépourvu de chlorophylle du milieu de la feuille, séparé du tissu vert par un endoderme. Le tissu fondamental, presque incolore, du centre de la feuille est composé d'éléments à parois minces, et d'autres à parois épaisses. Il est parcouru par deux faisceaux libéro-ligneux. La feuille du *Pinus Pinaster* possède la même structure que celle du *Pinus sylvestris*. La première se laissant plus facilement couper, il faudra donc lui accorder la préférence lorsqu'on les aura toutes deux à sa disposition.

Il est très facile aussi de constater la présence de canaux secréteurs dans les tissus de la tige d'un grand nombre d'ombellifères. Nous examinerons, par exemple, sous un faible grossissement, des sections transversales de l'inflorescence du *Fœniculum officinale*. L'épiderme, le tissu cortical, le liber et le bois des faisceaux, ainsi que la moelle se détachent nettement. Les canaux sécréteurs sont placés vis-à-vis des faisceaux. Ils se rencontrent dans l'écorce entre les faisceaux libéro-ligneux et un tissu dans lequel nous reconnaissons immédiatement un collenchyme.

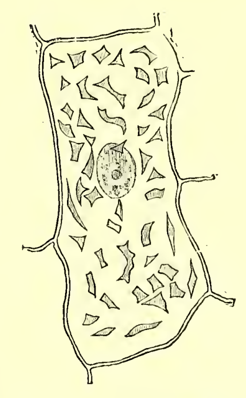
135. Les matières colorantes.

Un grand nombre d'organes végétaux contiennent des matières colorantes de nature très variée. Il faut remarquer, au préalable, que

ces matières colorantes sont déjà d'une importance qui n'est point négligeable, par cela même qu'elles fournissent directement des indications sur la réaction que possèdent les groupes cellulaires où elles se rencontrent. Dans les poils du pétiole de diverses espèces de *Begonia*, le suc cellulaire contient en dissolution des matières colorantes rouges : ce qui permet de conclure que ce suc cellulaire possède une réaction acide. Si on porte un de ces poils sur un porte-objet et qu'on le traite par une solution très étendue de potasse, la couleur rouge du pigment est remplacée par une coloration bleue ; lorsqu'on ajoute alors un acide, la couleur rouge réapparaît. Une matière colorante bleue est dissoute dans le suc cellulaire des cellules de la corolle du myosotis. La réaction du suc cellulaire est ici légèrement alcaline, car le pigment se colore en rouge par l'addition d'un acide.

En examinant au microscope des poils staminaux d'un *Tradescantia*, il est facile de constater qu'une matière colorante violette est dissoute dans le suc cellulaire des cellules. Nous enlevons avec une fine pince un lambeau d'épiderme d'un pétale de pervenche et d'un pétale de rose. A l'aide du microscope, nous trouverons que les deux préparations contiennent des pigments en dissolution dans le suc cellulaire. Mais dans un cas le pigment est bleu, tandis que dans l'autre, il est rosé.

Certains pigments ne se trouvent pas en dissolution dans les cellules, mais se rencontrent fixés à une masse fondamentale. Les corpuscules colorés (chromatophores), imprégnés de pigment, possèdent d'ordinaire des formes caractéristiques. Nous choisirons d'abord, comme matériaux d'étude, des fruits d'églantier pas trop mûrs, mais possédant déjà une belle coloration rouge. Nous pratiquerons des coupes dans leur réceptacle charnu. Les cellules contiennent, outre leur protoplasme et leur noyau, des fuseaux très pointus d'une coloration orangée ou des formations triangulaires de la même couleur : ce sont les chromatophores. La couleur rouge-orangé des racines de carottes (*Daucus carota*) provient de la présence de chromatophores. Il est facile d'observer, par l'examen microscopique, que ces corpuscules ont ici la forme de plaques rectangulaires ou de prismes allongés. Nous pratiquerons ensuite des sections superficielles à la face supérieure des sépales d'une fleur récemment éclose de *Tropaeolum majus*. A l'aide du microscope, nous apercevrons aisément dans les cellules (surtout dans les cellules épidermiques) un grand nombre de chromatophores anguleux, colorés en jaune (voy. fig. 87). Les stries brunes à la face supérieure des sépales de *Tropaeolum* sont dues, comme on peut le constater par l'é-


Fig. 87. — Coupe prise à la face supérieure d'un sépale de *Tropaeolum majus*. Paroi inférieure d'une cellule épidermique avec les corps colorés qui y adhèrent (d'après Strasburger). Gros. 540.

tude de coupes convenables, à la présence, aux endroits des stries, de cellules épidermiques à suc cellulaire d'un rouge carmin. Les pigments jaunes des plantes sont, presque sans exception, associés à une masse fondamentale protoplasmique. Il est rare qu'ils soient dissous dans le suc cellulaire, comme c'est le cas, par exemple, dans les cellules épidermiques des pétales de *Verbascum nigrum* (1).

La matière colorante de la plupart des fleurs jaunes n'est pas soluble dans l'eau, mais bien dans l'alcool. A l'aide de ce dissolvant, on peut facilement enlever, par exemple, la matière colorante d'un *Ranunculus* à fleurs jaunes. La plupart des matières colorantes rouges des fleurs, au contraire, sont solubles dans l'eau. Lorsqu'on broie dans un mortier contenant de l'eau des pétales d'une rose rouge ou d'une pivoine, par exemple, pour séparer ensuite par filtration la solution obtenue, on obtient un filtrat coloré en rouge, qui, d'après mes observations (j'ai expérimenté sur la pivoine), prend une couleur bleue lorsqu'on le mélange d'ammoniaque. L'addition d'acide chlorhydrique ramène la couleur rouge. Il sera parfois intéressant d'examiner au spectroscope des extraits de fleurs jaunes ou rouges (2). Il y aura lieu alors d'employer les méthodes données dans le § 7.

L'étude des matières colorantes du noyau ligneux de certains arbres est digne aussi d'intérêt. Nous examinerons, par exemple, une section transversale du bois rouge de santal (provenant du *Pterocarpus santalinus*). De larges vaisseaux sont adossés aux bandes annulaires annuelles de parenchyme ligneux disposées parallèlement. Nous remarquons aussi de nombreux rayons médullaires dont les cellules contiennent une matière résineuse d'une couleur rouge noirâtre, et des fibres ligneuses à parois fort épaisses. Tous les éléments du bois de santal contiennent une matière colorante dans leurs membranes. On y rencontre surtout une substance acide rouge, l'acide santalique. L'eau distillée n'enlève au bois de santal que des traces de sa matière colorante, mais, à l'aide d'eau ammoniacale, il est aisé d'en retirer un extrait d'un rouge carmin.

Les éléments du bois de Fernambouc (provenant du *Cæsalpinia echinata*) renferment dans leurs membranes une matière colorante jaunâtre, la brasiline. En traitant le bois de Fernambouc par l'eau chaude, on dissout une certaine quantité de ce corps, et le liquide, additionné d'ammoniaque ou de potasse, prend une couleur rouge sang (3).

(1) Pour ce qui concerne un grand nombre de ces particularités, voy. STRASBURGER, *Das botanische Praktikum*, 1884, p. 59.

(2) Voy. HANSEN, *Verhandlungen der physikalisch-medicinischen Gesellschaft zu Würzburg*, nouvelle série, vol. 18, n° 7.

(3) Pour ce qui concerne la structure anatomique du bois de Fernambouc, voy. WIESNER, *Rohstoffe des Pflanzenreiches*, 1873, p. 555.

136. Réactions microchimiques des alcaloïdes et de quelques autres substances.

On sait qu'il se forme dans les tissus de diverses plantes des alcaloïdes, des glucosides et d'autres substances, dont la signification physiologique est peu connue jusqu'à présent. Certains de ces corps servent indubitablement aux végétaux de moyen de protection contre les animaux nuisibles (1), d'autres (les glucosides, par exemple) fournissent

(1) En nous occupant des produits accessoires des transformations chimiques dans le règne végétal, nous avons eu l'occasion de faire remarquer que certains de ces produits, surtout les acides organiques, les tannins, les huiles éthérées, etc., jouaient un rôle important dans les plantes comme moyens de protection contre les atteintes des animaux nuisibles. Mais ce n'est certainement pas là la fonction exclusive de ces corps.

Les expériences qui vont suivre nous feront connaître d'une façon générale les moyens de défense des plantes contre les animaux, surtout contre les limaces (*). Deux ou trois exemplaires d'*Helix pomatio* (escargot des vignes) ou six exemplaires, environ, de la petite limace grise (*Limax agrestis*) sont déposés dans des cristallisoirs. Nous offrirons alors, comme nourriture, aux animaux les organes végétaux que nous allons énumérer : une feuille fraîche de *Ranunculus repens*, une feuille fraîche de *R. Ficaria*, une feuille fraîche de *Corydalis cava*, puis une feuille de chacune de ces plantes ramollie dans l'eau après avoir macéré dans l'alcool, quelques feuilles âgées d'une graminée, une feuille velue d'une borraginée, et enfin des feuilles de borraginées et de graminées traitées par l'alcool et l'eau. Les limaces, même très affamées, après être restées sans aliment pendant 24 heures, ne mangeront pas ou toucheront à peine aux feuilles fraîches de *Ranunculus* ou de *Corydalis* et dévoreront les feuilles ayant subi une macération. Ces dernières auront perdu leurs moyens de protection chimiques. On peut constater, en effet, que certaines substances sont très désagréables aux animaux, en déposant une goutte d'un suc végétal très âcre (de *Trapaeolum*, par exemple) sur le corps d'une limace en repos. Celle-ci montrera soit de fortes contractions, soit un dégagement de mucus; ce qui ne se produit pas avec une goutte d'eau. Qu'elles soient à l'état frais ou qu'elles aient subi une macération, jamais les limaces ne mangeront volontiers les feuilles de graminées ou de borraginées, protégées par leur silice ou par leurs poils.

Le tannin sert de moyen de protection dans beaucoup de plantes, par exemple chez le *Trifolium pratense*, le *Medicago sativa*, le *Poterium sanguisorba*, etc. Les limaces touchent à peine aux feuilles fraîches de ces plantes, mais elles les mangent lorsqu'elles ont macéré dans l'alcool et dans l'eau. En offrant des rondelles de carotte (*Daucus carota*) à des *Limax agrestis*, on remarque qu'elles sont fort goûtées par ces animaux. Tuons les rondelles par une immersion dans l'eau bouillante, déssèchons-les sur un fourneau et ramollissons-les dans une solution à 1 % de tannin, les limaces, même très affamées, ne les mangeront plus.

La présence d'acides végétaux constitue aussi un moyen de protection très efficace contre les animaux. Les limaces qui servent à nos expériences touchent à peine aux feuilles fraîches de *Rumex*, d'*Oxalis*, etc., mais elles se nourrissent très volontiers, au contraire, de ces mêmes feuilles lavées. Les huiles éthérées constituent aussi des moyens de protection chimiques, au sujet desquels on consultera le travail de Stahl.

Parmi les moyens de défense mécaniques, les poils se présentent en premier lieu à notre attention. Si, à des *Helix pomatio*, on donne, d'une part, des rameaux intacts de *Symphytum officinale*, d'autre part, ces mêmes organes écrasés, nous remarquerons que les derniers, devenus assez facilement accessibles à ces animaux, seront beaucoup moins dédaignés que les premiers.

Quand on mâche un morceau de feuille d'*Arum maculatum*, on perçoit aussitôt un goût désagréable et brûlant. Cette sensation provient de ce que les raphides qui se trouvent dans les cellules de la feuille sont mises en liberté lorsqu'on mâche la feuille et

(*) Voy. STAHL, *Pflanzen und Schnecken*, 1888.

dans certaines conditions une matière plastique (du sucre) par leur décomposition, mais ces fonctions ont été peu étudiées. De même, les réactions microchimiques dont on doit faire usage pour constater la présence de quelques alcaloïdes et de quelques glucosides, au moins, dans les tissus végétaux, sont encore en partie assez douteuses, comme j'ai eu souvent l'occasion de m'en assurer. J'indiquerai cependant ici quelques réactions.

Si nous examinons une coupe mince de l'albumen corné de la graine de *Strychnos nux-vomica*, il nous est facile de remarquer que les cellules possèdent des parois assez épaisses. Le contenu des cellules se compose d'albumines, de sucre et d'huile grasse. Lorsqu'on dépose des coupes minces d'une graine sèche sur le porte-objet dans une goutte d'acide sulfurique concentré, le contenu des cellules prend une teinte rougeâtre au bout de quelques minutes. Nous introduisons alors dans l'acide sulfurique qui baigne la coupe un petit fragment de chlorate de potassium, puis nous recouvrons d'une lamelle. Le contenu des cellules, surtout celui de cellules de l'albumen sous-jacentes au testa, prend bientôt une couleur violette, tandis que les membranes restent incolores (1) (réaction de la strychnine).

En examinant des sections transversales de la tige ou des rameaux de *Berberis vulgaris* (on emploie, par exemple, des rameaux ayant une épaisseur de 6 mm.), il est facile de distinguer le tissu cortical (2) et les faisceaux libéro-ligneux. Dans l'écorce, le liber mou et les rayons libériens se rencontrent un grand nombre de cellules à contenu jaune, et parfois cette couleur provient de la présence de la berbérine. Il se trouve aussi de la berbérine dans la portion périphérique du bois (quelquefois comme substance d'inclusion des membranes). En traitant les coupes par l'alcool et l'acide nitrique très dilué (1 p. d'acide sur 50 p. d'eau), les éléments qui contiennent de la berbérine perdent leur coloration jaune. La présence de plus grandes quantités de berbérine donne lieu à la formation de cristaux jaunes de nitrate de berbérine.

pénètrent alors dans les muqueuses de l'organe du goût. Mais en écrasant quelques feuilles d'*Arum* dans un mortier et en portant sur la langue quelques gouttes du liquide limpide obtenu après filtration, on ne percevra plus qu'un goût sucré, alors que le résidu resté sur le filtre possède encore le même goût désagréable que le morceau de feuillet intact Les feuilles d'*Arum*, comme aussi celles d'autres plantes (*Narcissus poeticus*, *Leucoyum vernum*, etc.), trouvent dans la présence de leurs raphides un moyen de protection mécanique, et lorsque ces feuilles à l'état frais seront offertes aux limaces, on constatera que celles-ci ne les toucheront presque pas.

Les considérations théoriques soulevées par les questions se rapportant aux moyens de protection des plantes ne pourront être traitées ici. Il faudra les chercher dans le travail de Stahl. Les expériences qui viennent d'être relatées auront seulement pour but de prouver que les plantes sont réellement pourvues de moyens de défense contre les animaux, et que, parmi ces moyens, les produits accessoires des transformations chimiques possèdent une place remarquable.

(1) Rosoll, *Sitzungsber. d. Akadem. d. Wiss. zu Wien*, 1re div., vol. 89.

(2) On trouvera des données précises sur la structure des organes caulinaires de *Berberis*, et surtout sur l'écorce, dans une dissertation présentée, en 1825, à l'Université de Koenigsberg par Boning sur l'anatomie de la tige de *Berberis*.

Nous pratiquons des sections transversales ou longitudinales dans un tubercule de *Colchicum autumnale*. Dans le voisinage immédiat du faisceau libéro-ligneux se trouvent des cellules renfermant un liquide jaunâtre très réfringent, tandis que la masse principale du parenchyme se montre très riche en amidon. Ces cellules jaunes contiennent de la colchicine. En traitant les coupes par l'ammoniaque, le contenu de ces cellules prend une couleur jaune intense.

Lorsqu'on dépose sur un porte-objet dans l'acide sulfurique dilué (1 volume d'acide concentré et 2 volumes d'eau) des sections transversales de rameaux de *Syringa vulgaris*, de 3 mm. environ d'épaisseur, les membranes des éléments ligneux, des rayons médullaires du bois et des fibres libériennes se colorent en vert jaunâtre, puis en vert bleuâtre. Toutes les autres cellules restent incolores. La réaction que nous venons d'indiquer est provoquée par la présence de syringine. Ce corps est inclus dans les membranes. Parfois aussi, lorsqu'on traite les coupes de *Syringa* par l'acide sulfurique, le contenu des cellules du parenchyme cortical prend une coloration bleuâtre. Ce phénomène n'est dû qu'au passage par diffusion dans ces cellules d'une petite quantité de syringine.

Nous pratiquons des sections transversales dans des rameaux de *Rhamnus Frangula* ayant 3 mm. environ de diamètre, et nous les soumettons, sur un porte-objet, à l'action d'une solution alcoolique d'hydrate de potassium. Certains éléments de la section, surtout ceux à parois minces du liber, prennent une coloration rouge intense, mais cette couleur est peu stable (réaction de la franguline).

L'examen de sections transversales de la racine de *Rumex crispus* permet de distinguer facilement le liège, l'écorce, ainsi que le bois et le liber des faisceaux. Dans les racines un peu âgées, le bois forme un cylindre fermé, traversé par les rayons médullaires. Si on traite les coupes par une solution étendue de potasse, le contenu des éléments à parois minces de l'écorce et du liber prend une couleur rouge intense qui est très stable (réaction de l'acide chrysophanique) (1).

V. CIRCULATION DES MATIÈRES PLASTIQUES DANS LES PLANTES.

137. Expériences sur les grains de pollen en germination.

Les observations et les expériences que nous avons effectuées sur le

(1) Voy. Borscow, *Botanische Zeitung*, 1874, et O. Herrmann, *Leipziger Dissertation*, 1876.

rôle des corps azotés et non azotés dans les plantes, nous ont déjà fait connaître une longue série de faits concernant le transport des aliments dans l'organisme végétal. Dans ce paragraphe et les suivants, nous nous occuperons plus spécialement de quelques particularités de cette circulation, et nous choisirons, en premier lieu, les grains de pollen comme matériaux d'étude.

Nous confectionnons d'abord une chambre humide en découpant, dans du carton assez épais, un petit cadre dont l'ouverture doit être légèrement plus étroite que la lamelle que l'on veut employer. Après avoir été complètement imbibé d'eau, ce cadre de carton est placé sur un porte-objet. Nous portons alors sur une lamelle une goutte du liquide dans lequel les grains de pollen doivent germer; nous y ajoutons le pollen, recueilli dans des anthères mûres; puis nous retournons rapidement la lamelle. Celle-ci est placée sur le cadre de carton, la goutte de liquide tournée vers le bas. Les grains de pollen vont germer dans cette goutte suspendue. Il suffit, pour cela, que la chambre humide ne manque point d'eau. D'après Strasburger, il est particulièrement facile de faire germer des grains de pollen d'*Allium*, de *Tulipa Gesneriana* et de *Narcissus poeticus* dans une dissolution à 3 0/0 de saccharose dans l'eau ordinaire. J'ai obtenu, par exemple, de très beaux résultats en l'employant avec le pollen d'*Allium Victoriale*. J'ai porté des grains de pollen, d'une part dans une goutte d'eau ordinaire suspendue, d'autre part dans une goutte d'une solution de saccharose à 3 0/0. Au bout de deux heures, en l'absence de lumière et sous une température de 18-19° C., il s'était déjà développé des tubes polliniques, qui, après deux nouvelles heures, s'étaient considérablement allongés. Dans la solution sucrée, on constatait, la présence d'un plus grand nombre de grains de pollen en germination que dans l'eau ordinaire, et un allongement plus grand des tubes polliniques. Il est évident que la germination des grains de pollen doit être liée à un transport d'aliments; car, pendant le développement des tubes polliniques, le protoplasme et les matières de réserve se rendent des grains de pollen dans les tubes. Il résulte vraisemblablement du fait que la production de tubes polliniques s'effectue mieux dans la solution sucrée que dans l'eau, que le sucre pris à l'extérieur par les grains de pollen en germination peut-être employé par ceux-ci comme substance alimentaire.

138. Expériences sur les feuilles.

Il n'y a que la plus petite partie de l'amidon formé dans les feuilles par l'assimilation qui soit utilisée pour le développement de la feuille elle-même. La majeure partie de l'amidon abandonne la feuille et se

transporte dans d'autres organes de la plante pour en permettre le développement. Dans beaucoup de cas, le glucose représente sans aucun doute le produit de solubilisation de l'amidon. Ce glucose se forme dans les feuilles par l'action des ferments diastasiques sur les grains d'amidon (voy. § 112). Des feuilles de *Tropaeolum*, de *Solanum* ou de *Cucurbita* sont cueillies pendant la soirée d'une chaude journée d'été. On les porte dans l'eau bouillante ; on les traite par l'alcool pour enlever la chlorophylle ; puis on en place quelques-unes dans une solution iodée, afin de s'assurer qu'il existe de grandes quantités d'amidon dans leurs cellules (voy. § 14). Les autres feuilles, après avoir été traitées par l'alcool, sont lavées à l'eau, et déposées pendant quelques heures, sous une température de 45° C., dans un infusé de malt fraîchement préparé. Ces feuilles, placées ensuite dans une solution iodée, ne donnent plus la réaction de l'amidon ou, tout au plus, qu'une légère réaction. Il en résulte que la diastase peut dissoudre l'amidon produit par l'assimilation dans les cellules des feuilles. Ce phénomène de dissolution s'effectue souvent avec une vitesse remarquable.

Nous cueillons, pendant une soirée d'une très chaude journée de juin ou de juillet, quelques feuilles de plantes très robustes, croissant à l'extérieur, de *Solanum*, de *Nicotiana*, d'*Atropa*, de *Cucurbita* ou de *Phaseolus*, pour examiner immédiatement, par voie macroscopique, et d'après la méthode indiquée dans le § 14, leur teneur en amidon. Ces feuilles se montrent riches en amidon. Si le lendemain matin, au lever du soleil, nous enlevons quelques feuilles à ces mêmes plantes, nous ne trouverons pas d'amidon dans les cellules lorsque la nuit aura été chaude ; pendant la nuit, cette substance s'est dissoute et a quitté les feuilles pour d'autres organes.

L'expérience qui va suivre est très instructive. Je l'ai effectuée sur des *Tropaeolum majus* cultivés en pots. On s'assure d'abord par voie macroscopique que les feuilles des robustes matériaux d'étude employés contiennent une forte quantité d'amidon. On place alors les plantes à l'obscurité dans un milieu renfermant beaucoup de vapeur d'eau, après leur avoir encore enlevé quelques feuilles, que l'on porte de même à l'abri de la lumière sous une cloche en verre. Au bout de quelque temps (de 5 jours seulement, dans mes expériences, effectuées sous une température de 12 à 15° C.), on examine par voie macroscopique la teneur en amidon des feuilles cueillies, et ensuite celle d'autres feuilles non séparées des plantes.

Les feuilles qui n'ont pas été détachées ne contiennent plus de l'amidon que dans leurs nervures, tandis que celles qui ont été cueillies en renferment encore des quantités plus ou moins grandes. Ces dernières n'ont pu se débarrasser de leurs hydrates de carbone pendant leur séjour dans l'obscurité, parce qu'elles ne se sont plus trouvées en relation avec d'autres organes comme les feuilles laissées sur la plante.

Lorsqu'on détermine par voie macroscopique la teneur en amidon des

feuilles d'*Impatiens parviflora* (cette plante croît souvent chez nous à l'état sauvage; elle peut être facilement obtenue aussi dans un jardin, en semant des graines dans un endroit légèrement ombragé), on trouve cette substance en grande quantité chez les matériaux d'étude exposés à des conditions normales de végétation. Il arrive cependant, comme j'ai eu l'occasion de le voir, que les nervures sont pauvres en amidon par rapport au mésophylle et ne prennent par conséquent, sous l'action d'une solution iodée, qu'une coloration jaune ou légèrement bleuâtre. Lorsqu'on porte dans l'obscurité, avec quelques feuilles qui en ont été détachées, des exemplaires d'*Impatiens*, cultivés en pots, on observe que les feuilles restées sur la plante sont, comme celles qui en ont été détachées, dépourvues d'amidon au bout de 48 ou de 72 heures. Les feuilles coupées d'*Impatiens* se comportent donc à l'obscurité d'une autre façon, à cet égard, que les feuilles détachées des *Tropaeolum*. Celles-ci jouissent de la propriété de retransformer en amidon le glucose provenant de la solubilisation de l'amidon, qui a abandonné les feuilles encore attachées à la plante; les feuilles d'*Impatiens* ne jouissent, tout au plus, qu'à un minime degré de cette propriété.

Nous pratiquons maintenant une section transversale dans une feuille d'*Impatiens parviflora*, ce qui nous permettra de constater que son mésophylle présente un parenchyme palissadique ainsi qu'un parenchyme lacuneux. La nervure principale se compose, comme c'est d'ordinaire le cas dans les feuilles, d'une assise périphérique de cellules pauvres en chlorophylle, étirées longitudinalement, et de plusieurs faisceaux libéro-ligneux, dont la portion libérienne est entourée d'une gaine amylifère. La couche de cellules allongées qui enveloppe les faisceaux libéro-ligneux des grosses et des minces nervures peut être désignée sous le nom de gaine conductrice.

On a déjà montré que les nervures, surtout les plus grosses, des feuilles d'*Impatiens* qui se sont développées dans des conditions normales, ne sont pas abondamment fournies d'amidon. Si on expose pendant 24 heures à l'obscurité des *Impatiens* cultivés en pots, pour examiner ensuite par voie macroscopique leur teneur en amidon, cette pénurie d'amidon sera encore mise davantage en évidence. Ces nervures se détachent sous forme d'un réseau jaune du mésophylle, coloré en bleu, assez riche en amidon. Nous laissons ensuite pendant 48 heures à l'obscurité, sous une cloche de verre et dans une atmosphère humide, des plantes d'*Impatiens* cultivées en pots ainsi que des feuilles qui en ont été détachées. Toutes les feuilles sont complètement, ou à peu près, dépourvues d'amidon. La réaction microchimique des glucoses (voy. la méthode dans le § 115) permet de constater, comme j'ai pu m'en assurer, que les cellules de la gaine conductrice des feuilles détachées contiennent beaucoup de sucre, tandis que les cellules correspondantes chez les feuilles non cueillies étaient pauvres en sucre.

Nous pouvons en conclure que l'on doit considérer la gaine conduc-

trice des nervures comme le tissu de la feuille qui opère le passage des produits d'assimilation des feuilles vers les autres organes. Dans beaucoup de plantes, le *Tropaeolum*, par exemple, le produit de la solubilisation de l'amidon peut régénérer facilement et d'une manière transitoire de l'amidon, surtout dans les cellules de la gaine conductrice. Chez d'autres plantes, l'*Impatiens*, par exemple, cela ne se peut pas ou cela n'est guère possible (1).

139. Expériences sur les incisions annulaires.

Ce sont les branches de saule qui conviennent le mieux pour ce genre d'expériences. C'est au printemps qu'on fera, de préférence, les observations qu'elles comportent. J'ai obtenu des résultats particulièrement satisfaisants à l'aide du *Salix fragilis*. Des branches de saule, de 200 mm. environ de longueur et 12 mm. d'épaisseur, reçoivent une incision annulaire à leur base morphologique. L'anneau d'écorce que l'on enlève ainsi, à 40 mm., par exemple, de leur extrémité inférieure, possède une largeur de 20 mm. environ. Le bois qu'il recouvrait est donc mis à nu. La branche est suspendue ensuite dans un vase cylindrique en verre d'une hauteur convenable. L'extrémité supérieure de la branche est attachée par un cordon que l'on fixe, au moyen de cire à cacheter, sur une lame en verre fermant l'ouverture du vase. Le fond de ce vase est recouvert d'une couche d'eau de quelques mm., que n'atteindra point l'extrémité inférieure de la branche. Des bandes mouillées de papier à filtrer, recouvrant la surface intérieure du cylindre, contribueront à distribuer l'humidité dans l'appareil d'une manière uniforme. Dans une de mes expériences, j'ai conservé, du 19 mars au 21 avril, une branche de saule dans un vase cylindrique en verre soustrait à l'action de la lumière. Le résultat produit par l'incision annulaire est représenté par la fig. 88. Le petit morceau de branche, de 45 mm. de longueur, a formé de courtes racines au-dessous de l'incision annulaire; de longues racines, par contre, se sont développées au-dessus de l'anneau et des jets, à l'extrémité supérieure du morceau de branche. Celui-ci n'a produit que de courtes racines au-dessous de l'anneau, parce que cette portion n'avait pas suffisamment de matières plastiques à sa disposition. La petite quantité de matériaux de construction azotés et non azotés du morceau de branche au-dessous de l'incision a été rapidement employée. Il est évident que des substances non azotées peuvent encore y affluer, car il est facile de montrer (pour la méthode, voy. § 110), comme j'ai eu l'occasion de m'en assurer, en opérant, par exemple, en février, sur

(1) Bibliographie : SACHS, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. 3, cah. 1 (travail très important); SCHIMPER, *Botan. Zeitung*, 1885, n°s 47-49.

une branche de *Salix fragilis* de 6 mm. de diamètre, que la portion ligneuse périphérique de la branche de saule contient beaucoup d'amidon. Mais il y a une interruption dans le transport de l'albumine, qui s'effectue surtout par les éléments du liber mou, comme le prouvent précisément les recherches sur les incisions annulaires et d'autres observations encore (voy. § 141). La production de racines au-dessous de l'incision sera naturellement d'autant plus abondante que l'endroit où l'on enlève un anneau d'écorce sur la branche est plus élevé. Je n'ai plus remarqué de production de racines au-dessous de l'anneau, quand la partie de la branche sous l'incision n'avait que 20 mm. de longueur. Lorsqu'on n'enlève pas un anneau d'écorce complet, mais qu'on laisse une bande verticale d'écorce entre la partie supérieure allongée de la branche et la portion inférieure courte, on constate une production relativement abondante de racines dans la portion inférieure du morceau de branche, parce que le pont de tissu libérien laisse passer des quantités d'albumine assez importantes.

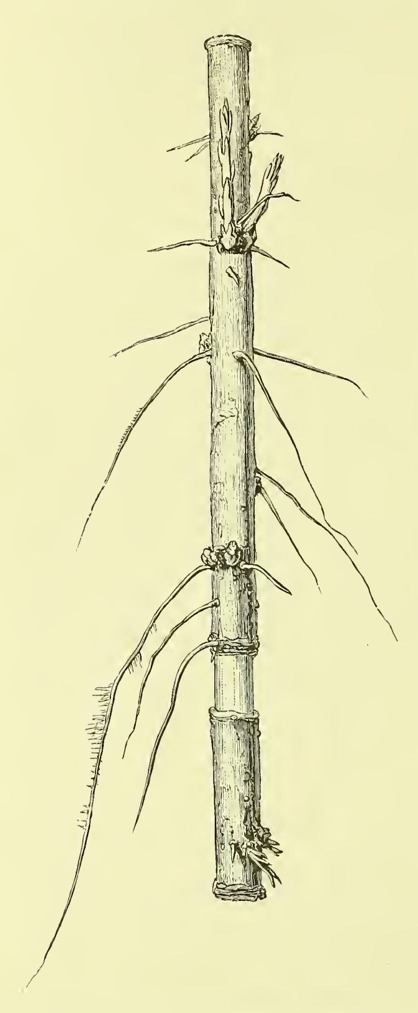


Fig. 88. — Branche de *Salix fragilis* ayant subi une incision annulaire. Des racines et des jets vigoureux se sont développés à la partie supérieure de la branche.

En examinant des sections transversales de branches de saule au microscope, il est facile de voir que le bois des faisceaux est limité immédiatement par la moelle à sa partie intérieure. Le tissu libérien existe seulement entre l'écorce proprement dite et la partie extérieure du bois, de sorte que l'incision annulaire doit atteindre le bois pour empêcher le transport de l'albumine.

On obtient des résultats tout différents de ceux que fournissent les branches de saule incisées, ou, en général, les tiges possédant la structure typique des plantes dicotylées, en pratiquant, par exemple, des incisions annulaires dans les tiges de *Mirabilis Jalappa* ou de *Nerium Oleander*. La structure anatomique des tiges de ces plantes est, en effet, toute particulière.

Sur des sections transversales de tiges de *Mirabilis* de 4 mm. environ d'épaisseur, on voit, au microscope, l'épiderme, l'écorce primaire avec son anneau extérieur de collenchyme, puis un anneau de cellules fortement lignifiées (fibres scléreuses) dans lequel se trouvent intercalés des faisceaux libéro-ligneux, et enfin la portion centrale de la tige. Cette dernière est formée par une moelle, dont les cellules sont encore abondamment fournies d'amidon à la fin d'octobre bien que les feuilles aient déjà été tuées par les gelées nocturnes, et par des faisceaux libéro-ligneux, à bois et à liber nettement caractérisés, distribués dans le tissu fondamental. Une incision annulaire n'atteindra pas ces faisceaux centraux, de sorte que l'enlèvement d'un anneau d'écorce ne produira pas une interruption complète du transport des matières plastiques azotées et non azotées.

Nous faisons choix d'une tige de *Nerium Oleander* robuste et abondamment pourvue de feuilles; puis nous lui enlevons un anneau d'écorce à une distance de 20 mm. environ de sa base et, à l'aide d'ouate, nous fixons cette branche dans l'orifice du bouchon d'un vase rempli d'eau, de manière que l'extrémité inférieure de la tige soit plongée de 80 mm. environ dans l'eau.

Sous une température suffisamment élevée et dans une atmosphère pas trop sèche (il est nécessaire de conserver les pousses de *Nerium* dans une serre), un grand nombre de racines s'échappent après un certain temps de la portion de la tige au-dessus de l'incision annulaire plongée dans l'eau. Plus tard, il se développe de même un assez grand nombre de racines à la base de la tige, par conséquent au-dessous de la zone incisée. La tige de *Nerium* se comporte donc d'une façon tout autre que celle de saule, et cette différence doit être attribuée à la différence de structure de ces deux plantes. Dans le *Salix*, les éléments du liber mou se trouvent seulement à la périphérie des faisceaux libéro-ligneux, tandis que le *Nerium* possède du liber mou sur les faces extérieure et intérieure des faisceaux, comme il est facile de s'en assurer par l'examen microscopique. Chez le *Nerium*, la circulation d'albumine n'est donc pas complètement interrompue par une incision annulaire, comme c'est le cas chez le *Salix*. Il en résulte qu'il peut se produire chez le *Nerium* un courant considérable des matières plastiques azotées et non azotées au-dessous de l'incision : ce qui permet une production relativement abondante de racines dans cette portion de la tige (1).

140. La gaine à amidon et à sucre. Ses fonctions dans la circulation des aliments.

Un grand nombre de plantes sont caractérisées par la présence d'une

(1) Bibliographie: Hanstein in *Jahrbücher f. wissensch. Botanik* de Pringsheim, vol. 2, et Sachs, *Flora*, 1863, p. 33.

gaine amylifère développée, qu'il est facile d'observer, par exemple, sur des sections transversales de la tige de haricot dont la croissance s'est effectuée dans l'obscurité jusqu'à ce que le premier entre-nœud caulinaire se soit considérablement allongé. L'épiderme, l'écorce, la moelle ainsi que le cercle des faisceaux libéro-ligneux sont faciles à distinguer. Ce dernier est enveloppé extérieurement, par conséquent du côté de son liber, par une couche annulaire d'éléments plus petits que ceux du tissu cortical : la gaine amylifère. Les cellules de cette gaine sont abondamment fournies d'amidon, ce qui a permis d'émettre la supposition que la circulation des hydrates de carbone devait surtout s'effectuer par cette gaine. Cependant divers phénomènes viennent plutôt infirmer cette hypothèse. On pratique en juillet des sections transversales dans la partie inférieure de la tige de robustes exemplaires de *Phaseolus* croissant à l'extérieur. Chaque faisceau libéro-ligneux est pourvu extérieurement d'un fort amas de fibres libériennes, et il est facile de s'assurer, par l'examen microscopique, qu'il existe de grandes quantités d'amidon dans le parenchyme de l'écorce et de la moelle. Les cellules de la gaine amylifère, comme j'ai pu le voir, contiennent peu d'amidon ou même n'en renferment aucun grain. Il en résulte que la circulation des hydrates de carbone a certainement son siège principal dans l'écorce et dans la moelle. La gaine amylifère renferme donc beaucoup d'amidon lorsque les éléments de l'amas de fibres libériennes des faisceaux libéro-ligneux ne sont pas encore complètement développés. Avec les progrès de la croissance, l'amidon disparaît de plus en plus des cellules de la gaine pour servir à la l'édification des éléments à parois épaisses du liber (1).

Nous avons déjà eu l'occasion de faire remarquer que beaucoup de plantes possèdent la propriété de transformer d'une façon transitoire en amidon, dans leurs organes conducteurs (nervures foliaires), les hydrates de carbone qui abandonnent le mésophylle des feuilles. D'autres végétaux ne possèdent cette propriété qu'à un moindre degré, c'est pourquoi nous ne trouvons point leurs nervures foliaires remplies d'amidon, mais de glucose, par exemple. Nous pratiquons des sections transversales dans la partie inférieure de la lame foliaire de betterave et dans la partie supérieure du pétiole. Dans les conditions normales, l'amidon formé par l'assimilation dans le limbe se transporte par les nervures et le pétiole dans la racine pour permettre son développement. Mais si, à l'aide des méthodes microchimiques, nous ne trouvons que de petites quantités d'amidon dans le parenchyme qui entoure les faisceaux libéro-ligneux des nervures et du pétiole, nous rencontrons, au contraire, de fortes quantités de glucose. Il en résulte que le tissu conducteur des hydrates de carbone peut être dénommé gaine conductrice ou, plus spécialement, gaine à sucre (2).

(1) Voy. H. Heine, *Berichte der Deutschen botan. Gesellschaft*, vol. 3, cah. 5.
(2) Voy. H. de Vries, *Landwirthsch. Jahrbücher*, vol. 8, p. 445.

141. Les tubes criblés et leur rôle dans la circulation des aliments.

Lorsqu'on coupe en travers la tige d'un *Cucurbita*, il s'écoule de la surface de section une quantité considérable d'un liquide gélatineux. Si l'on considère la quantité de sève écoulée, il devient immédiatement évident que celle-ci a été chassée de la plante blessée par l'action de pressions. Nous constaterons plus tard, en effet, l'existence dans l'organisme des conditions nécessaires pour la production de pressions de ce genre. Nous nous occuperons d'abord de l'examen du suc dégagé.

Nous coupons donc en travers une tige de *Cucurbita*, de *C. Pepo*, par exemple (j'ai expérimenté sur le *C. minensis*), puis nous plaçons un petit morceau de papier coloré par du tournesol rougi sur la surface de section de la tige. Fait remarquable, le papier se colore en bleu. Il en résulte, évidemment, qu'une grande partie du liquide qui s'écoule de la tige de *Cucurbita* possède une réaction alcaline relativement forte, alors que la plupart des plantes, lorsqu'elles ont été blessées, présentent une réaction acide et colorent par conséquent en rouge le papier coloré par du tournesol bleu. Si nous recouvrons de nouveau la surface de section du *Cucurbita* avec un papier rouge, nous trouverons bientôt que toute la surface du papier ne bleuit plus au contact de la surface de section, et que le papier ne prend cette coloration qu'à de certains endroits, notamment à ceux qui se trouvent en contact avec les faisceaux libéro-ligneux. En plaçant maintenant un papier bleu sur la surface de section de la tige, ce papier se colorera en rouge, sauf en quelques places. Immédiatement après avoir été coupée, une tige de *Cucurbita* laisse donc échapper un mélange de sucs dans lequel prédomine une réaction alcaline. Le procédé qui vient d'être indiqué permet de constater que le suc du parenchyme possède une réaction acide chez les *Cucurbita*, comme chez les autres plantes, tandis que le suc d'un certain tissu des faisceaux libéro-ligneux, le liber mou, a une réaction alcaline. Les autres plantes présentent les mêmes particularités, mais elles n'y sont point aussi faciles à apercevoir (1).

Nous pratiquons une section transversale dans l'axe hypocotylé du *Cucurbita Pepo*, en employant de préférence des matériaux conservés dans l'alcool. Dans la plupart des végétaux, il n'existe du liber mou que sur la face externe des faisceaux, mais la plante que nous allons examiner présente du liber mou à la partie extérieure comme à la partie intérieure du bois des faisceaux. Si, à l'aide de la méthode indiquée dans le § 93, nous cherchons à déterminer la teneur en albumine des tissus, nous remarquons que les éléments du liber mou sont abondamment fournis de matières protéiques. La substance gélatineuse, riche

(1) Voy. SACHS, *Botan. Zeitung*, 1862.

en albumine et à réaction alcaline, qui s'est échappée lorsqu'on a coupé la tige de *Cucurbita*, est localisée en quantités particulièrement fortes dans les tubes criblés du liber mou : cellules longuement étirées, divisées par des cloisons transversales (plaques criblées) munies de nombreux pores. Les tubes criblés présentent un protoplasme pariétal. Ils sont remplis d'un liquide gélatineux riche en albumine et à réaction alcaline, qui peut traverser les plaques criblées, et passer d'un tube criblé dans un autre. La circulation de cette gelée dans les plantes intactes doit être produite par les mêmes causes que celles qui provoquent le dégagement de gélatine des plantes blessées. Les tubes criblés subissent la pression

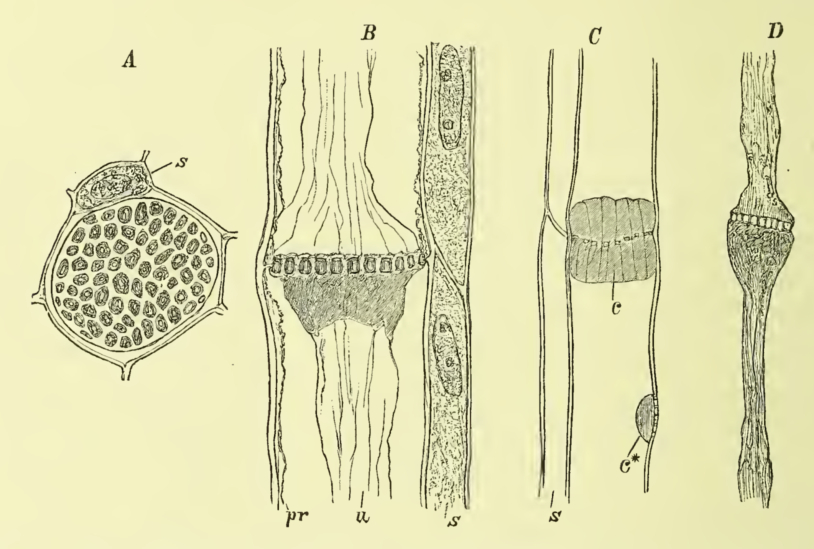


Fig. 89. — Tubes criblés de *Cucurbita Pepo*. A, en coupe transversale; de B à D, en coupe longitudinale. A, plaque criblée vue de dessus; B et C, tubes criblés et leurs cellules annexes vus de côté; D, extrémités reliées des cordons mucilagineux de deux tubes criblés, après l'action de l'acide sulfurique *s*, cellules annexes; *u*, cordon de mucilage; *pr*, utricule protoplasmique; *c*, cal; *c**, petit cal d'une ponctuation criblée unilatérale (d'après Strasburger). Gros. 540.

qu'exerce la turgescence du parenchyme qui se trouve dans leur voisinage. Il s'effectuera ainsi une circulation de leur contenu vers les endroits où la pression est moindre, surtout vers les parties très jeunes du corps de la plante. Les tubes criblés serviront donc dans l'organisme de tissu conducteur pour l'albumine; ce qui est parfaitement confirmé par les incisions annulaires. L'albumine en circulation dans la gélatine des tubes criblés est mise ainsi en mouvement dans ceux-ci, et peut être transportée d'un endroit de la plante à un autre, souvent même à un endroit très éloigné. Nous examinerons de plus près la structure des tubes criblés et surtout celle des plaques criblées.

Pour cela, nous pratiquerons des sections transversales dans une tige de *Cucurbita Pepo* de 10 mm. environ d'épaisseur (conservée

dans l'alcool). A un faible grossissement, il est facile de distinguer l'épiderme, le collenchyme interrompu en certains endroits, le tissu cortical, l'anneau de sclérenchyme et les faisceaux libéro-ligneux disposés sur deux circonférences. Ces faisceaux possèdent, outre une portion ligneuse à vaisseaux très larges, une portion libérienne extérieure et une intérieure. D'après Strasburger, pour examiner le liber d'une façon convenable à un fort grossissement, il est bon de placer les coupes pendant quelque temps dans le bleu d'aniline et de les porter ensuite sur le porte-objet dans une goutte de glycérine. Le tissu libérien, tant intérieur qu'extérieur, est constitué par des tubes criblés à large lumière, de leurs cellules annexes avec leur contenu coloré en bleu-foncé (voy. fig. 89) et de cellules cambiformes. Lorsqu'elles sont rencontrées par la coupe, les plaques criblées sont facilement reconnaissables (1).

142. Le latex.

On sait qu'un grand nombre de plantes contiennent du latex. Si on coupe une euphorbe, par exemple, son latex, blanc, s'échappe souvent en grande quantité de la blessure (surtout lorsqu'on expérimente sur les euphorbes à forme de cactus). Il est évident que le contenu des réservoirs laticifères reçoit une pression assez considérable des cellules turgescentes de parenchyme qui leur sont contiguës, sinon il ne pourrait s'écouler de la blessure une quantité de latex aussi considérable.

On ne connaît pas encore la signification physiologique du latex. Je ne puis me défendre de croire que les latex jouent un rôle dans la physiologie de la nutrition; cependant, dans certains cas, ils pourraient servir, en outre, de moyen de défense contre les animaux nuisibles.

Comme dans le sérum du lait animal, de nombreux petits corpuscules solides, en suspension dans le liquide aqueux du latex, lui communiquent d'ordinaire une couleur blanche. Le nombre de ces corpuscules solides est très variable suivant la provenance du latex et suivant le moment auquel on l'examine. Si on porte sur un porte-objet une goutte du latex de la tige ou de la feuille du figuier, sans l'additionner d'eau, il est facile de s'assurer en l'observant sous un faible grossissement que ce latex contient relativement peu de corpuscules en suspension. Le latex des euphorbes et celui du *Ficus elastica* se montrent d'ordinaire beaucoup plus riches en particules solides.

Dans le liquide aqueux du latex se trouvent en dissolution des

(1) Voy. Wilhelm, *Beiträge zur Kenntniss des Siebröhrenapparates dicotyler Pflanzen* Leipzick, 1880, et Fischer, *Untersuchungen über das Siebröhrensystem der Cucurbitaceen*, Berlin, 1884.

corps minéraux, des sucres, des matières albuminoïdes, parfois aussi de la pepsine (voy. § 95), etc. Les corpuscules en suspension sont souvent formés en majeure partie de caoutchouc. Cependant certains latex contiennent aussi des graisses ou des grains d'amidon en suspension.

Lorsqu'on mélange sur un porte-objet une petite quantité du latex d'une euphorbe avec une légère quantité d'eau ou d'alcool, le latex se coagule. Au microscope, on remarque une agglutination des corpuscules qui se trouvaient au début régulièrement distribués dans le latex.

Les réservoirs laticifères des plantes sont de nature très variée. La racine de *Scorzonera hispanica* (scorzonère) conviennent parfaitement pour l'étude des réservoirs laticifères. Nous emploierons des matériaux conservés dans l'alcool, et nous y pratiquerons des sections longitudinales tangentielles après les avoir débarrassés de leur enveloppe corticale superficielle. Les réservoirs laticifères, faciles à reconnaître à leur contenu, montrent, dans le cas qui nous occupe, des vaisseaux longuement étirés, présentant de nombreuses anastomoses entre eux et parcourant un parenchyme à petites cellules.

Nous soumettons ensuite à l'examen des tiges de *Chelidonium majus*, et nous employons des matériaux conservés dans l'alcool. Sur des sections transversales, nous observons l'épiderme, le collenchyme et le parenchyme cortical vert. Celui-ci confine intérieurement à un anneau formé de tissu mécanique dont les éléments sont fortement épaissis. Les faisceaux possèdent un bois et un liber développés. Nous apercevons ensuite dans le liber, ainsi que dans le tissu fondamental qui entoure les faisceaux, des éléments dont le contenu est coloré en brun. Ce sont les vaisseaux laticifères. On sait que le latex de *Chelidonium* possède à l'état frais une coloration rouge-orangé. L'action de l'alcool sur les matériaux d'étude a coagulé le latex dans ses réservoirs.

143. L'accumulation des matériaux.

Il est fort remarquable que certains groupements histologiques du corps de la plante servent de voies de transport ou de dépôts pour certaines substances. Nous ne sommes pas actuellement en état d'expliquer d'une façon détaillée les causes de ce phénomène; ce n'est possible que d'une façon générale, et j'ai déjà traité les questions qui s'y rapportent dans mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*.

S'il se produit, par exemple, une accumulation d'amidon dans les tissus des dépôts de matières de réserve, c'est que certaines causes obligent les matières non azotées qui sont conduites dans ces cellules à se déposer sous forme de grains d'amidon. Des causes semblables doivent intervenir aussi lors de la production transitoire d'amidon dans les cellules qui appartiennent aux voies de transport des hydrates de

carbone. L'accumulation d'amidon ne peut s'effectuer que dans les cellules où se trouvent des amylogènes en activité, et, quand cette condition est réalisée, le précipité se produit si un nouvel afflux d'hydrate de carbone en dissolution n'est pas empêché. Les expériences qui vont suivre nous permettront de nous représenter la manière dont s'effectue l'accumulation des matériaux.

Nous remplissons un vase cylindrique d'une dissolution de sulfate de cuivre, et nous y plongeons un vase poreux, comme on en emploie dans les éléments galvaniques. Puis nous versons de l'eau pure dans le vase poreux, et nous introduisons une lame de zinc dans l'eau. La solution de sulfate de cuivre pénètre dans le vase poreux, se répand dans l'eau, et enfin se décompose lorsqu'elle vient en contact avec le zinc. Il se forme un sulfate de zinc soluble, et le zinc se recouvre d'une croûte de cuivre métallique et d'oxyde cuivrique, dont l'épaisseur va en croissant. L'accumulation de cuivre dans le vase poreux sera donc facile à constater.

On peut démontrer, de la façon que nous allons indiquer, que les substances en dissolution peuvent être attirées et enlevées à leurs dissolvants par des corps susceptibles d'être imbibés.

Nous versons dans l'eau quelques gouttes d'une solution alcoolique d'iode, de manière que l'eau prenne une couleur jaunâtre, et nous y portons de l'amidon de froment. Ce dernier, s'emparant de l'iode, se colore en bleu, tandis que le liquide est bientôt décoloré. Nous plaçons ensuite 6 ou 8 filtres de papier superposés dans un entonnoir de verre, et nous versons sur le filtre une solution aqueuse étendue de violet de méthylaniline. Le papier retient toute la matière colorante, et il s'écoule du filtre un liquide clair comme de l'eau.

DEUXIÈME PARTIE

PHYSIOLOGIE DE LA CROISSANCE ET DES MOUVEMENTS DUS A LA SENSIBILITÉ.

QUATRIÈME DIVISION.

LES MOUVEMENTS DUS A L'ACCROISSEMENT DES PLANTES.

I. LES PROPRIÉTÉS DES ORGANES VÉGÉTAUX EN VOIE DE CROISSANCE ET LES MOUVEMENTS DÉTERMINÉS PAR DES CAUSES INTERNES DE CROISSANCE.

144. L'extensibilité et l'élasticité des organes végétaux en voie de croissance.

Il est d'une grande importance pour la théorie de la croissance que les organes végétaux en voie de développement soient fortement extensibles et élastiques. Nous nous occuperons plus tard des détails, qu'il nous suffise ici de constater d'abord ce fait d'une façon tout à fait générale (1).

Nous choisirons, comme matériaux d'étude, des morceaux de tiges d'*Aristolochia sipho* ou de *Sambucus nigra*, très fraîchement coupés. Aux extrémités, supérieure et inférieure, d'un jeune entre-nœud et de l'entre-nœud plus âgé qui le suit, nous tracerons de fins traits à l'encre de Chine; puis nous prendrons l'organe des deux mains, et, en le maintenant sur une règle graduée en millimètres, nous l'allongerons aussi fortement que possible sans cependant tirer jusqu'à le rompre. Il sera facile de constater que les jeunes entre-nœuds sont plus extensibles que les âgés. J'ai trouvé, par exemple, que l'extensibilité pouvait atteindre 9 % dans un jeune entre-nœud d'*Aristolochia sipho*, mesurant 50 mm. de longueur. Si on abandonne ensuite les tiges après cette dilatation, elles se raccourcissent d'une quantité plus ou moins grande. Il en résulte, par conséquent, que leur tissu est élastique; mais, comme elles ne reviennent plus identiquement à leur longueur primitive, et qu'elles subissent un allongement permanent à la suite d'une forte dilatation, leur tissu doit donc être considéré comme imparfaitement élastique.

Des entre-nœuds fraîchement coupés de *Vitis* ou d'*Aristolochia*, de 6 mm. environ d'épaisseur, croissant verticalement, sont disposés, à l'aide des doigts, sur un carton présentant des cercles concentriques,

(1) Voy. SACHS, *Lehrbuch d. Botanik,* 4e éd., p. 753.

de manière que l'axe de l'objet coïncide avec une des circonférences. Le rayon connu de ce cercle mesurera le rayon de courbure de l'entre-nœud fléchi. Abandonné à lui-même, l'organe ne se redressera plus; il restera, au contraire, assez fortement incurvé, et il sera facile encore de déterminer son rayon de courbure. Les organes végétaux en voie de croissance sont donc flexibles. Ils possèdent assurément une élasticité de courbure, mais celle-ci est imparfaite.

Lorsque des tiges dressées, à croissance longitudinale active, reçoivent un ou plusieurs coups de bâton sur leur région inférieure, où l'allongement est à peu près terminé, la courbure imprimée à la région frappée se propage sous forme d'onde jusqu'au sommet libre. Ce dernier se montre par conséquent courbé, et la face qui a reçu le coup, comme je l'ai montré d'une façon détaillée dans mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, forme la concavité de la courbure. Ces courbures dues à des coups ou à des secousses, que j'ai pu particulièrement bien observer sur des tiges de *Vitis* ou de *Lonicera tatarica*, sont dues à la flexibilité et à l'imparfaite élasticité des organes végétaux.

145. Relations entre l'intensité de la dilatation provoquée par la turgescence dans les organes végétaux, leur croissance et leur extensibilité.

Il est indispensable que nous établissions d'abord la vitesse relative de la croissance des zones successives d'un organe végétal. Nous opèrerons sur de jeunes inflorescences coupées de *Butomus umbellatus*, de *Plantago media* et de *Papaver*, ou sur des axes épicotylés non détachés de *Phaseolus multiflorus*, qui se sont développés dans l'obscurité jusqu'à ce qu'ils aient atteint une longueur de quelques centimètres. Nous marquons les matériaux d'étude de fins traits à l'encre de Chine, distants les uns des autres de 10 ou 20 mm., pour en diviser la longueur en tranches. Ces traits doivent être tracés avec quelque soin et suivant le procédé indiqué dans les §§ 55 et 146. Les inflorescences seront alors placées verticalement dans un vase cylindrique rempli d'eau ordinaire de manière à être complètement immergées. Quant à la tige de haricot, elle ne sera pas encore coupée. Si, après 12 ou 24 heures, nous mesurons l'écartement des traits, nous constaterons qu'ils ne sont plus à 10 ou 20 mm. les uns des autres, mais à une distance plus grande. Ce phénomène est produit par la croissance. Il sera facile maintenant de constater, ce qui est particulièrement digne d'intérêt, que la croissance n'est pas la même dans toutes les tranches; ou la croissance la plus rapide a son siège dans la tranche la plus jeune (comme j'ai pu l'observer, ce qui confirme les observations de H. de Vries, en employant dans cette expérience une jeune inflorescence de *Plantago* qui avait été divisée en zones de 20 mm. de longueur), ou le maximum de croissance

ne se trouve pas dans la zone la plus jeune, mais dans une des plus jeunes (la troisième, par exemple). C'est ce dernier cas que j'ai constaté dans des expériences sur l'axe épicotylé de germinations de *Phaseolus*, qui s'étaient développées dans la sciure humide en l'absence de lumière. Cet axe qui possédait une longueur de 70 mm. avait été marqué de traits d'encre de Chine distants les uns des autres de 5 mm. seulement. Après 48 heures, et sous une température de 15° C., la tranche la plus jeune avait crû de 1 mm., la seconde de 3, la troisième de 8, la quatrième de 6, la cinquième de 5, la sixième de 3 et la septième de 1. En général, on observe toujours que la vitesse de la croissance des cellules diminue progressivement avec l'âge jusqu'à devenir nulle.

Après avoir examiné la marche de l'allongement dans nos matériaux d'étude, nous les plasmolyserons (voy. § 56) en les plongeant dans une dissolution à 10 % de sel marin ou de nitrate de potassium. Les morceaux de tiges de 2 à 3 mm. d'épaisseur peuvent être plongés tout entiers dans la solution saline; les morceaux plus gros doivent, au préalable, avoir été coupés en deux. Au bout d'un temps plus ou moins long (3 à 12 heures), la plasmolyse est complète. Par suite de l'augmentation de la turgescence, les intervalles se sont raccourcis, et si on calcule le raccourcissement par rapport à la longueur primitive des intervalles (par conséquent 5, 10 ou 20 mm.), on remarque en général que le raccourcissement le plus considérable a lieu précisément dans les régions caulinaires où la croissance était la plus active. Il existe une relation évidente entre l'intensité de la dilatation due à la turgescence des cellules des diverses tranches et la vitesse de leur croissance. Ce fait nous conduit à admettre que la vitesse de la croissance superficielle des cellules dépend de la dilatation due à leur turgescence. Cette dilatation sera définie par l'intensité de la turgescence et par la résistance des parties tendues de la cellule (protoplasme et membrane cellulaire). Cette résistance dépend, entre autres causes, de l'extensibilité des couches tendues, de sorte qu'il sera particulièrement intéressant de mesurer exactement cette dernière.

Pour ces recherches, nous emploierons une inflorescence de *Plantago*, par exemple, que nous aurons divisée en tranches de 20 mm. de longueur, dont nous aurons mesuré la vitesse de croissance et que nous aurons plasmolysée. La tige, ramollie, sera déposée avec précaution sur une lamelle en liège; son extrémité supérieure, recouverte d'une autre lamelle de liège pressée contre la première au moyen d'une pince de Mohr. Une ficelle est fixée par un nœud coulant à la partie la plus âgée de la tige. Cette ficelle est tendue, et piquée à l'aide d'une épingle sur la lame de liège, lorsque l'objet examiné a atteint l'allongement désiré. Cet allongement doit être arrêté lorsque la tige de *Plantago* a repris artificiellement la longueur qu'elle possédait avant la plasmolyse. A

l'aide d'une règle graduée en millimètres, nous déterminons alors la grandeur de la dilatation dans chacune des zones en les rapportant aux longueurs primitivement égales des zones (20 mm.). Nous remarquerons que la dilatation des tissus est beaucoup plus considérable dans les régions jeunes de l'organe végétal que dans les régions âgées. Il y a donc un rapport étroit entre la vitesse de croissance, l'intensité de la dilatation due à la turgescence des cellules et l'extensibilité des tissus dans les diverses tranches (1). H. de Vries a obtenu, par exemple, les chiffres que nous allons indiquer pour l'allongement des tranches après 10 heures, pour le raccourcissement dans la solution saline et l'allongement pendant la dilatation; le tout par rapport à des zones d'une longueur primitive de 20 mm., en expérimentant sur un jeune pédicelle floral de *Thrincia hispida*, qu'il avait divisé en cinq zones, par des traits à l'encre de Chine.

Zones.	Accroissement partiel, en mm.	Raccourcissement pendant, la plasmolyse en mm.	Allongement à la suite de l'extension, en mm.
I (au-dessus)	3,3	1,8	1,9
II	4,7	1,9	2,1
III	4,1	2,0	1,9
IV	0,9	0,8	0,6
V	0,0	0,0	0,0

146. La contraction des racines.

L'étude attentive d'un grand nombre de plantes nous montre que leurs germinations, après avoir étalé leurs cotylédons à la surface du sol et fait sortir leur plumule de la terre d'une longueur plus ou moins considérable, plongent ensuite dans le sol le point d'insertion de leurs cotylédons et des feuilles échappées de la gemmule. Cet enfouissement ultérieur dans le sol des points d'insertion des organes foliaires ne peut être produit que par une contraction des racines. H. de Vries (2), en effet, a pu mettre en évidence l'existence de cette contraction. Elle a pour but physiologique de procurer à la gemmule un abri dans le sol, et elle est produite par un mode de croissance particulier des racines. Les cellules parenchymateuses des racines sont fortement turgescentes. Cette turgescence est une des causes déterminantes de la croissance. Mais, comme la dilatabilité des membranes cellulaires dans les racines déjà quelque peu âgées est plus grande dans le sens transversal que dans une direction parallèle à l'axe longitu-

(1) Les principes fondamentaux de notre théorie actuelle de la croissance ont été développés par Sachs. Voy. à ce sujet mon *Lehrbuch d. Pflanzenphysiologie*, p. 213. Pour ce qui concerne les expériences entreprises, il faudra consulter le travail de H. de Vries intitulé : *Ueber mechanische Ursachen der Zellstreckung*, Halle, 1877.

(2) H. de Vries, *Landwirthschaftl. Jahrbücher*, vol. 9, p. 37.

dinal de la racine, la turgescence va donc déterminer une dilatation cellulaire plus forte dans la première direction que dans cette dernière, et il en résultera une contraction de l'organe. Le raccourcissement sera alors fixé progressivement par la croissance. Il sera particulièrement intéressant pour nous d'examiner de plus près la contraction des racines provoquée par la turgescence, car elle est indispensable pour produire un raccourcissement qui doit être fixé ultérieurement par la croissance et être rendu permanent.

Nous semons en été des graines de *Carum carvi* à l'air libre dans une bonne terre de jardin et nous laissons germer pendant 2 à 3 mois les plantules qui en proviennent. J'ai semé les graines à la fin du mois de juillet et j'ai employé mes matériaux d'étude à la fin d'octobre. Pour effectuer des expériences sur la contraction des racines, on retire les plantes du sol; on les dépouille de leurs parties vertes, pour préserver les racines d'une perte d'eau considérable par la transpiration des feuilles; on les porte dans le laboratoire, et, après lavage et dessiccation, on les débarrasse des racines latérales et de leurs extrémités inférieures minces. Les racines sont marquées alors de traits à l'encre de Chine, et, pour cela, on dépose la racine à examiner sur une lame de liège, sur la moitié de la longueur de laquelle, on a fixé une seconde lame ayant à peu près l'épaisseur de la racine à employer. La racine est appliquée sur le bord de la lame supérieure, avec des épingles plantées contre l'organe dans la lame inférieure; puis, à l'aide d'un pinceau, on trace alors des traits à l'encre de Chine à des intervalles déterminés, en employant une règle divisée en millimètres. Dans mes expériences sur les racines de *Carum*, l'intervalle compris entre deux traits mesurait 70 à 100 mm. chez celles qui présentaient une épaisseur de 6 à 9 mm. à leur partie inférieure, c'est-à-dire à leur base morphologique. Les racines sont placées ensuite dans des cristallisoirs en verre remplis d'eau. En mesurant à des intervalles de temps déterminés les distances comprises entre les traits, par exemple après 2, 4, 24, 2 × 24, 4 × 24 heures, on trouve que les traits vont en se rapprochant jusqu'à ce que la contraction de la racine ait cessé. La grandeur de la contraction est considérable; elle comportait 2, 5-4 %, après 24 heures, dans quelques-uns des cas que j'ai examinés.

Si on dessèche les racines contractées et si on les plasmolyse, en les plongeant dans des dissolutions de sel marin ou de nitrate de potassium, on remarque, déjà après quelques heures, que les matériaux d'étude en se ramollissant se sont considérablement allongés. C'est là un phénomène caractéristique, en étroite relation avec la contraction des racines due à l'augmentation de la turgescence de leurs cellules par l'absorption d'eau.

Quoique les racines plongées dans l'eau se raccourcissent, leur volume total augmente naturellement avec celui de leurs cellules. Celles-ci

se dilatent dans une direction perpendiculaire à l'axe longitudinal de l'organe, et celui-ci gagnera en épaisseur. Nous pourrons constater cette dilatation par les observations qui vont suivre.

Dans une racine de *Carum*, nous pratiquons une section transversale d'une épaisseur d' 1/2 mm. ; nous isolons une partie de la coupe par deux incisions parallèles, et nous en mesurons la longueur sur le papier au moyen d'une chambre claire, en faisant usage d'un faible grossissement (10 fois environ). Les coupes seront immédiatement déposées dans l'eau. Si nous mesurons de nouveau leur longueur après une demi-heure environ, nous remarquerons, en comparant les deux dessins, que les lambeaux de racines ont augmenté de longueur. En mesurant la distance des lignes dessinées et en divisant par 10 les nombres obtenus (si nous employons un grossissement de 10), nous obtiendrons la longueur absolue des lambeaux de racine avant et après l'absorption d'eau.

147. La tension longitudinale.

Pour démontrer que beaucoup d'organes végétaux peuvent éprouver des tensions longitudinales, des entre-nœuds ou des fragments d'entre-nœuds croissant verticalement sont placés sur du carton épais, marqué de fins traits, et leur longueur est fixée par deux points au moyen d'un crayon à pointe très aiguë. A l'aide d'un rasoir bien aiguisé, on enlève des lambeaux des divers tissus des entre-nœuds (épiderme, uni d'ordinaire au collenchyme ; écorce ; bois ; moelle, séparée du bois par quatre incisions longitudinales) ayant la longueur de l'objet et sans solution de continuité. On les porte sans les déchirer sur le carton pour en fixer la longueur par des points de repère. Au moyen d'une règle divisée en millimètres, on pourra alors mesurer la longueur des entre-nœuds intacts ainsi que celle de leurs tissus isolés. Les observations dont nous nous occupons s'effectuent d'une façon convenable en employant des entre-nœuds de 50 mm. environ de longueur, en voie de croissance active, de *Sambucus nigra*, de *Nicotiana Tabacum*, de *Vitis vinifera* et d'*Helianthus tuberosus*. On remarque que la longueur des lambeaux isolés de tissus va toujours en augmentant de l'extérieur vers l'intérieur. La moelle, isolée d'entre-nœuds à croissance active, devient d'ordinaire plus longue que l'entre-nœud intact ; l'épiderme isolé est au contraire plus court, et les lambeaux des tissus intermédiaires ont conservé exactement, ou à peu près, la longueur de l'organe intact. La moelle, par conséquent, a une forte tension positive ou active; l'épiderme, une tension négative ou passive.

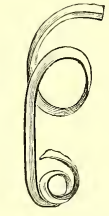
Si on représente par 100 la longueur de l'entre-nœud intact, et si on effectue le pourcentage de la différence qui existe entre la longueur de l'épiderme isolé et celle de la moelle isolée, on obtient des nombres (évidemment pas d'une exactitude absolue) qui mesureront l'intensité de

la tension dans les organes végétaux intacts. Lorsque, par exemple, la longueur totale d'un entre-nœud employé pour ces recherches est de 50 mm., la longueur de l'épiderme isolé de 49 mm., celle de la moelle isolée de 54 mm., la tension de l'organe intact (par rapport à sa longueur représentée par 100) pourra être représentée par 10. Cette valeur, en effet, sera souvent obtenue, lorsqu'on effectuera, par exemple, des recherches sur les entre-nœuds de *Sambucus nigra*.

Il est intéressant de mesurer, de la façon qui vient d'être indiquée, l'intensité de la tension dans chacun des entre-nœuds successifs d'une tige. Lorsqu'on rapporte toujours à 100 les différences de longueur des lambeaux d'épiderme et de moelle, on obtient des nombres comparables qui permettent de constater que la tension, faible dans les entre-nœuds les plus jeunes, acquiert une valeur considérable dans ceux qui sont quelque peu plus âgés, pour devenir de nouveau beaucoup moindre dans ceux qui sont encore plus âgés. Les pousses de *Sambucus nigra* constitueront donc d'excellents matériaux d'étude.

Pour ce qui concerne les causes de la tension longitudinale, il faut remarquer que la production de cette tension doit être surtout attribuée à la forte turgescence des cellules de la moelle. Les cellules de la moelle ont la propriété d'absorber de très grandes quantités d'eau. La moelle cherche ainsi à s'étendre le plus possible et s'efforce de déchirer les tissus dilatables de la périphérie. Ceux-ci, qui ne sont pas seulement dilatables, mais encore élastiques, chercheront de leur côté à comprimer la moelle. La turgescence considérable des cellules de la moelle provoquera chez elles un allongement particulièrement important, circonstance qui augmentera encore la tension dans les entre-nœuds. Avec les progrès de l'âge de la tige, lorsque la moelle aura perdu son eau et qu'elle ne s'accroîtra plus, la tension longitudinale s'annulera également. Mais la dilatation transversale, qui sera étudiée d'une façon détaillée dans le § 148, interviendra alors pour produire une forte croissance en épaisseur de l'organe végétal.

Au moyen des inflorescences de *Taraxacum officinale*, il est facile de démontrer, dans un cours de physiologie végétale, que la moelle possède réellement la propriété d'absorber sans difficulté des quantités d'eau considérables. L'examen au microscope, de l'extérieur vers l'intérieur, d'une section transversale montre un épiderme, un collenchyme, un tissu vert et un parenchyme médullaire; dans le tissu fondamental se trouvent des faisceaux libéro-ligneux. Si on fend une jeune inflorescence suivant sa longueur, et qu'on en place les morceaux dans l'eau, ils s'enroulent rapidement en spirale sous les yeux de l'observateur, le côté de la moelle devenant convexe (voy. fig. 90). Le tissu médullaire absorbe bientôt de grandes


Fig. 90. — Inflorescence de *Taraxacum officinale* fendue suivant sa longueur, ayant subi des enroulements en spirale après avoir été déposée dans l'eau et par suite d'une absorption d'eau.

quantités d'eau ; il en résulte un allongement de ses cellules et l'enroulement en spirale de l'objet. Si on examine, de la façon indiquée plus haut, l'intensité de la tension d'un entre-nœud d'une plante immédiatement après l'avoir coupé, puis celle d'un second entre-nœud, dès qu'il sera légèrement flétri après avoir été exposé à l'air, on trouve que la différence qui existe entre l'épiderme isolé et la moelle, isolée également, est plus grande dans le premier entre-nœud que dans le second : ce qui prouve de nouveau que la teneur en eau des tissus est d'une haute importance pour l'intensité de la tension des organes végétaux.

148. La tension transversale.

Pour constater l'existence d'une tension transversale en un endroit quelconque d'une tige ou d'un tronc, on coupe en cet endroit un disque transversal, dont on mesure la circonférence ; on fait dans les tissus périphériques une incision verticale radiale ; puis on enlève toute l'écorce de l'objet examiné. L'anneau d'écorce isolé est ramené ensuite, sans être étiré, dans sa position naturelle. On remarque alors que les surfaces de section ne se rejoignent plus ; ce qui prouve que l'écorce doit être en tension passive ou négative dans les tiges et les troncs intacts (voy. fig. 91). Si on mesure la distance des surfaces de section de l'anneau d'écorce isolé et replacé dans sa position normale, et qu'on soustraie le nombre trouvé de celui qui a été obtenu pour la circonférence du disque transversal intact, on aura la mesure de l'anneau d'écorce raccourci par l'isolation. Enfin, il sera facile d'effectuer le pourcentage de l'intensité de la tension par rapport à la circonférence primitive de l'objet examiné. Des matériaux d'étude convenables pour constater l'existence de la dilatation transversale seront fournis par des tiges d'*Hélianthus* ainsi que par des morceaux de tige ou de branches, âgées de 5 à 10 ans, de *Prunus*, de *Pyrus* ou de *Salix*. J'ai pu mesurer, par exemple, la tension de disques transversaux de 15 mm. d'épaisseur provenant de branches du *Prunus insititia* et d'un *Salix*. La circonférence du disque de *Prunus* mesurait 106 mm. ; celle du *Salix*, 132. La distance des surfaces de section était chez le premier de 4, 5 mm. ; chez le second, de 6. Les intensités de tension étaient donc respectivement de 4, 2 et de 4, 5 %.

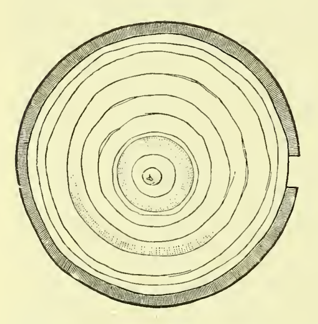


Fig. 91. — Disque transversal provenant d'une branche de *Prunus*. L'écorce, d'abord détachée, est replacée autour du bois.

(1) Voy. Kraus, *Botan.-Zeitung*, 1867. On trouvera dans mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie* de nombreuses données importantes sur la tension des tissus.

En mesurant de cette manière l'intensité de la tension en plusieurs endroits à la fois d'une tige (en découpant, par exemple, des disques transversaux à la base, au milieu et à la partie supérieure d'une tige d'*Hélianthus annuus*, pour en isoler ensuite des anneaux d'écorce), on remarquera que la tension transversale, relativement minime dans les régions les plus jeunes de l'objet examiné, augmente considérablement dans les plus âgées.

Une forte tension transversale dans les tiges et les troncs détermine une augmentation considérable d'épaisseur. La circonférence du tissu central (surtout du bois) augmente davantage pendant la croissance en épaisseur que celle des tissus de la périphérie. Ceux-ci seront par conséquent distendus et se raccourciront lorsqu'on les isolera. La masse ligneuse ne possède pas toujours la même circonférence; ses dimensions subissent, au contraire, des fluctuations considérables; ce qui est facile à concevoir, si l'on songe que la quantité d'eau d'imbibition du bois influe énormément sur son volume. L'augmentation de la teneur en eau du bois aura donc pour effet d'augmenter la tension dans le tronc. Si nous découpons, par exemple, des disques transversaux dans une branche de *Prunus insititia*, puis que nous prenions aussitôt l'intensité de la tension dans chacun des disques, et enfin celle d'autres disques qui ont séjourné au préalable pendant 24 heures dans l'eau, on observera que la tension des derniers est supérieure à celle des premiers. Dans des recherches que j'ai effectuées sur des disques transversaux de *Prunus*, ayant 15 mm. environ d'épaisseur et à peu près 100 mm. de circonférence, la tension des disques s'élevait de 4, 5 à 5, 5 % après un séjour de 24 heures dans l'eau. Pour ce qui concerne l'action des facteurs extérieurs (température, lumière) sur les phénomènes de tension, je renverrai le lecteur au travail publié par G. Kraus dans la *Botanische Zeitung* ainsi qu'à mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*. Je ne m'occuperai pas non plus du phénomène de la périodicité de la tension des tissus, qui ne sera pas élucidé d'ici à longtemps.

149. Les sommets végétatifs et la croissance longitudinale des organes végétaux.

Les sommets végétatifs des organes végétaux sont de natures très différentes suivant les cas. Il nous suffira d'examiner attentivement le sommet végétatif d'*Hippuris vulgaris*; car, dans un grand nombre de plantes, le sommet végétatif est identique à celui-là. Nous découpons, sur une longueur d'un centimètre environ, le bourgeon terminal d'une tige très vigoureuse; nous enlevons le plus de feuilles possible et nous pratiquons des sections longitudinales minces dans le bourgeon. La fig. 92 montre l'aspect que présente une coupe longitudinale médiane bien réussie. Pour pouvoir observer d'une manière claire et nette la

disposition des cellules du sommet végétatif, il est nécessaire de clarifier les coupes, en les traitant, par exemple, par une solution concentrée de potasse, puis en les lavant à l'eau et en les plaçant alors dans l'acide acétique concentré. Les membranes de séparation des couches cellulaires convexes, superposées, forment une réunion de paraboles à foyer commun. La couche cellulaire la plus externe, d'où provient l'épiderme, est désignée sous le nom de dermatogène (*d*) ; puis vient le périblème (*pr*), à plusieurs couches de cellules, d'où dérive l'écorce de la tige; enfin le plérome (*pl*) qui produit le cylindre axile des faisceaux libéro-ligneux, comme on peut le constater au bas de la coupe. Chez l'*Hippuris*, mais il n'en est pas de même chez toutes les plantes supérieures, il y a une séparation nette du dermatogène, du périblème et du plérome dans le sommet végétatif.

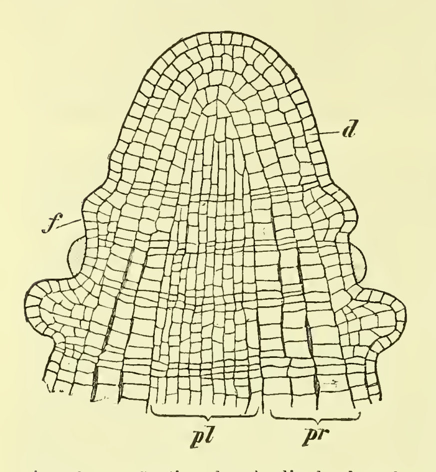


Fig. 92. — Section longitudinale dans le sommet végétatif de *l'Hippuris vulgaris*. *d*, dermatogène ; *pr*, périblème ; *pl*, plérome ; *f*, ébauche foliaire (d'après Strasburger). Gros. 240.

La disposition des cellules dans le sommet végétatif est conforme au principe, posé par Sachs (1), de la découpure à angle droit. Les cellules anticlines, c'est-à-dire celles dont les membranes sont perpendiculaires à la surface du sommet végétatif, et les périclines, c'est-à-dire celles dont les parois possèdent la même courbure que la surface, se coupent sous un angle droit. Les parois anticlines représentent par conséquent une série de trajectoires orthogonales pour les périclines. Le phénomène en vertu duquel les membranes cellulaires se rencontrent sous un angle droit s'observe d'ailleurs très généralement dans le règne végétal. L'exemple le plus simple de cette découpure à angle droit nous est donné par les filaments d'algues (de *Spirogyra*, par exemple).

Pour examiner le sommet végétatif des racines, nous pratiquerons des sections transversales dans des racines de *Zea Mays* ou d'*Hordeum*. On y rencontre aussi un dermatogène, un périblème et un plérome, mais notre attention sera spécialement attirée par la coiffe au sommet de la racine.

Les cellules du sommet végétatif des tiges et des racines sont en voie de division active. Ces cellules subissent une forte croissance superficielle, et l'organe ne s'allonge que lorsqu'elles sont devenues quelque peu plus âgés. On admettait généralement que la croissance superficielle s'effectuait par intususception. Dans ces derniers temps, on a eu re-

(1) Voy. Sachs, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. 2.

cours à la théorie de l'apposition pour expliquer les phénomènes observés, mais les recherches effectuées n'ont pas encore fourni de conclusion définitive (1).

Il faut remarquer, notamment, que l'allongement et le développement ultérieur des éléments formés dans les sommets végétatifs peuvent se produire soit au sommet, soit à la base des organes récemment formés. Mais nous nous bornerons à constater les phénomènes qui peuvent être observés pendant la croissance des axes caulinaires des plantes supérieures.

Chez les graminées — et aussi chez certains autres végétaux — le tissu de l'axe, enveloppé d'une gaine à la base des entre-nœuds, conserve pendant longtemps son activité, alors que les portions de l'entre-nœud situées plus haut se sont déjà transformées en tissus permanents. Ce fait remarquable de l'existence d'une zone basale de croissance intercalaire peut être montré très aisément. Nous coupons un entre-nœud dans un chaume de *Secale*. Cet entre-nœud est partagé en deux moitiés, l'une inférieure, l'autre supérieure. Les deux fragments de l'entre-nœud-sont placés sous une cloche en verre et plongés par leur base dans l'eau. Au bout de 24 heures, nous observerons que la moitié inférieure s'est allongée, tandis que l'autre est restée stationnaire. La fig. 93 représente la moitié inférieure d'un entre-nœud de *Secale* après un séjour de 24 heures dans l'air humide. Le nœud est figuré en *k*. La partie *a* est sortie de la gaine par suite de sa croissance.

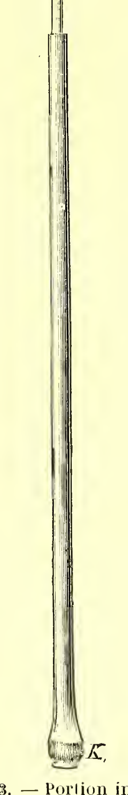


Fig. 93. — Portion inférieure d'un entre-nœud du chaume de *Secale*. La partie *a* est sortie de la gaine par suite de sa croissance intercalaire.

Chez les haricots (*Phaseolus*) et beaucoup d'autres plantes, la portion en voie de croissance des entre-nœuds se trouve à leur sommet. Lorsqu'on trace, par exemple, deux traits à l'encre de Chine, à quelque distance l'un de l'autre, sur la partie supérieure du second entre-nœud d'un haricot, c'est-à-dire sur l'entre-nœud qui fait suite à l'épicotyle, alors que le troisième entre-nœud possède déjà une croissance active, on remarque après 24 heures que la distance des traits a beaucoup augmenté. Les entre-nœuds de haricots croissent encore par leur sommet, alors que leur

(1) La théorie de l'apposition compte, STRASBURGER, entre autres, parmi ses partisans. Le travail le plus récent s'occupant de la théorie de l'apposition a été publié par NOLL (*Botan. Zeitung*, 1887).

partie basale a déjà terminé sa croissance; ils se comportent donc d'une toute autre façon que ceux des graminées.

150. La croissance en épaisseur.

La croissance en épaisseur de plantes différentes ne s'effectue point d'après un seul et même mode. Nous nous bornerons cependant ici à examiner la croissance en épaisseur des organes caulinaires et des racines.

Nous soumettrons d'abord à l'examen un axe caulinaire de 3 à 4 mm. d'épaisseur d'*Aristolochia sipho*, en nous servant de matériaux frais ou conservés dans l'alcool. La fig. 94 nous montre une section transversale mince à un faible grossissement. Elle est facile à interpréter. Remarquons que les faisceaux libéroligneux, rangés en cercle, sont assez écartés les uns des autres. Le cambium des faisceaux (*fc*), constitué par des cellules étroites, disposées en séries radiales, se prolonge dans le parenchyme du tissu fondamental par le cambium interfasciculaire (*ifc*), et il en résulte la formation d'un anneau de cambium.

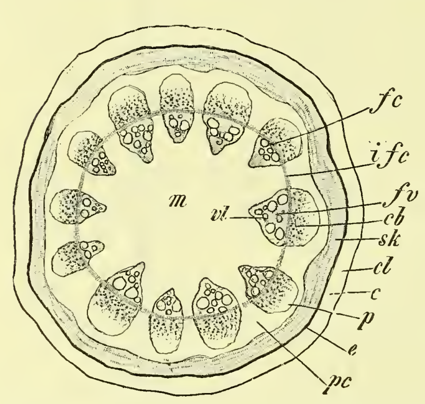


Fig. 94. — Section transversale à travers un rameau de 5 mm. d'épaisseur d'*Aristolochia sipho*; *m*, moelle; *fv*, faisceau libéro-ligneux; *vl*, portion ligneuse; *cb*, portion libérienne; *fc*, cambium fasciculaire; *ifc*, cambium interfasciculaire; *p*, parenchyme à tubes criblés de la partie externe du liber, établissant la transition vers le tissu fondamental; *pc*, péricycle; *sk*, anneau de sclérenchyme; *e*, gaine amylifère; *c*, tissu vert de l'écorce; *cl*, collenchyme) d'après Strasburger). Gros. 9.

Si l'axe caulinaire continue son développement, l'anneau de cambium formera du bois vers l'intérieur et du liber vers l'extérieur. La croissance en épaisseur des tiges, produite de cette manière, provient surtout d'un développement considérable du bois des faisceaux libéro-ligneux, comme on le voit immédiatement en examinant, par exemple, des sections transversales de tiges d'*Aristolochia* d'une épaisseur de 10 mm. Nous observons alors environ 10 rayons médullaires primaires qui traversent le bois suivant toute son épaisseur et s'étendent du cambium à la moelle. Les rayons médullaires secondaires sont plus nombreux. Il faut encore remarquer la production de périderme à la périphérie des tiges plus âgées et des solutions de continuité dans l'anneau de sclérenchyme, qui se montre fermé dans les parties plus jeunes (voyez fig. 94, *sk*).

L'axe hypocotylé du *Ricinus communis* fournit également des matériaux d'étude convenables pour observer les modifications apportées

dans les tiges par la croissance en épaisseur. La fig. 85, p. 234, représente la section transversale d'un faisceau libéro-ligneux d'un axe hypocotylé de *Ricinus* complètement allongé. En employant des matériaux conservés par l'alcool, il nous sera facile de constater la présence du cambium interfasciculaire. De même que dans l'aristoloche, le cambium des faisceaux et le cambium interfasciculaire, tout l'anneau de cambium, par conséquent, donne du bois secondaire vers l'intérieur, du liber secondaire vers l'extérieur, et détermine bientôt une croissance considérable en épaisseur.

Nous pratiquons des coupes dans la partie supérieure de la radicule d'une germination de *Phaseolus multiflorus* qui commence à former ses premières racines latérales. Nous apercevons l'épiderme, le tissu cortical et le cylindre central contenant le faisceau libéro-ligneux. Ce cylindre est complètement entouré à sa périphérie d'un tissu désigné sous le nom d'endoderme. Les racines sont caractérisées par une disposition du liber et du bois toute différente de celle de la tige. Dans les racines, il y a plusieurs faisceaux ligneux qui alternent avec un nombre exactement égal de faisceaux libériens, plus rapprochés de la périphérie du cylindre central. La section transversale de la racine de haricot nous montre quatre faisceaux ligneux et quatre de liber; nous pourrons donc l'appeler tétrapolaire. Avec les progrès du développement des racines, lorsque la croissance en épaisseur se manifeste, le tissu situé entre les faisceaux ligneux et libériens se transforme en cambium. Il se produit un anneau fermé de cambium qui forme vers l'intérieur du bois secondaire et vers l'extérieur, du liber secondaire.

151. L'auxanomètre enregistreur.

L'auxanomètre est un appareil qui sert à la mesure de l'accroissement des plantes. C'est Sachs (1) qui l'a construit le premier d'une façon complète. Wiesner (2) en a quelque peu modifié le mécanisme. Comme j'ai à ma disposition l'auxanomètre de Wiesner, que l'on peut se procurer pour le prix de 75 marcs environ chez tout mécanicien adroit, j'en donnerai le dessin et la description.

Un pied massif de fonte (fig. 95) porte sur une colonne verticale d'acier (S') une tige de laiton horizontale (*m*), fixée au moyen d'une vis (*s*). A cette tige est attachée, à l'aide d'une pièce métallique en forme de fourche (*d*), une petite poulie (*r*) de caoutchouc durci, calée à une poulie plus grande (R) également en caoutchouc durci. Les deux poulies sont concentriques sur le même axe d'acier tournant dans un support convenable. Chacune des poulies possède une gout-

(1) Voy. Sachs, *Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg,* vol. I, p. 112.
(2) Voy. Wiesner, *Flora*, 1876, p. 467.

tière à sa périphérie pour recevoir le fil. Une des extrémités du fil placé dans la gorge de la petite poulie est attachée à la plante dont on veut déterminer l'allongement (à mon grand regret, la fig. 95 ne représente pas exactement le mode d'attache du fil à la plante) ; l'autre extrémité porte un petit poids (*g*) servant à tendre le fil. Le fil de la grande poulie est tendu à un bout par le poids *g'*, et à l'autre, par le poids indicateur *Z*. Celui-ci, fabriqué en caoutchouc durci, possède une glissière verticale spéciale. Elle consiste en deux baguettes

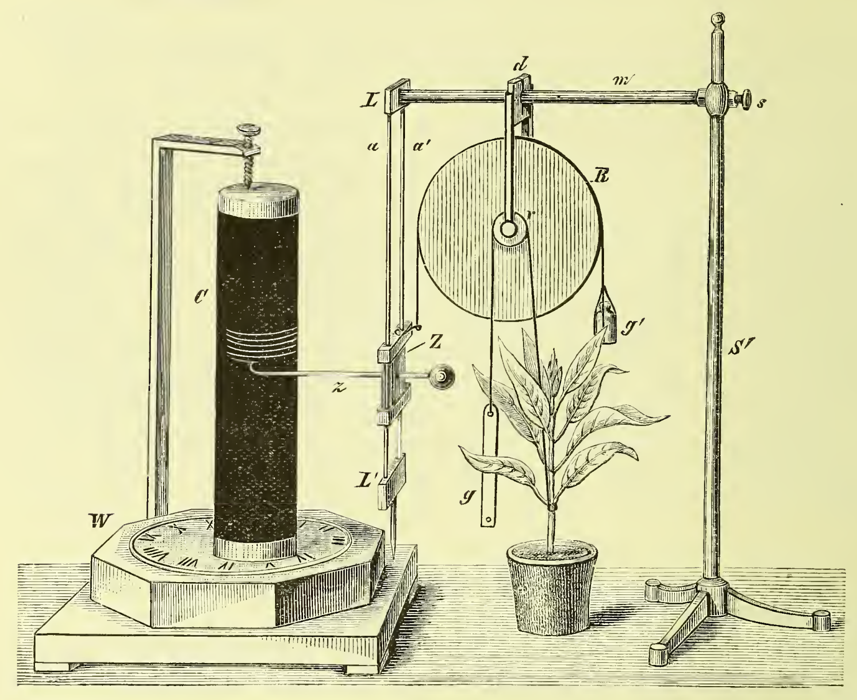


Fig. 95. — Auxanomètre.

métalliques (*a* et *a'*) placées bien verticalement et soigneusement polies, fixées à des pièces prismatiques *L* et *L'* de caoutchouc durci. Le poids indicateur, percé en quatre endroits pour livrer passage aux baguettes métalliques constituant la glissière, porte encore le stylet *z* qui doit servir d'indicateur. Le cylindre enregistreur *C*, de 8 centimètres environ de diamètre et 30 centimètres de hauteur, assujetti excentriquement sur le cadran à heures d'un mouvement d'horlogerie *W*, fait un tour par heure. Le rayon de la petite poulie mesure, par exemple, 1,5 cm., et celui de la grande, 12. Comme la grande poulie pendant l'allongement de la plante, se meut proportionnellement à l'accroissement de la plante, on voit que l'auxanomètre agrandira 8 fois. La

pièce g' doit avoir exactement le même poids que l'indicateur Z, mais le poids g ne doit exercer sur la plante que la traction la plus minime possible.

Il est facile d'ajuster le fil (fil de soie) sur la plante; pour cela, on fait un anneau à un des bouts et on passe l'autre bout dans cet anneau. Ce nœud coulant viendra serrer la partie supérieure d'un entre-nœud, immédiatement sous la base d'une feuille. Si on effectue les observations à la lumière, on placera un miroir verticalement derrière la plante, et parallèlement à la fenêtre, pour éviter des flexions héliotropiques gênantes. Ces expériences doivent être effectuées aussi dans une pièce dont les variations de température sont les plus petites possible. Il faut évidemment toujours noter la température. La terre où les plantes sont enracinées doit être arrosée longtemps avant l'expérience, et, pendant le cours de celle-ci, on veillera à ce qu'elle ne se dessèche point. Dans le travail que nous avons cité, Sachs a fait connaître les causes d'erreur et le moyen de les éviter.

Avant d'être employé, le cylindre de l'auxanomètre est recouvert de papier. Pour cela, on étend sur une table une feuille de papier de grandeur suffisante, que l'on mouille régulièrement au moyen d'une éponge légèrement imbibée; puis on enduit les deux bords longitudinaux d'une solution de gomme et on roule le cylindre sur le papier. Lorsque le papier est sec, on promène le cylindre de long en large dans une large flamme de thérébentine, afin que le papier soit régulièrement recouvert de noir de fumée. Pendant que l'auxanomètre fonctionne, l'indicateur z, mis en mouvement par l'allongement de la plante, vient toutes les heures pendant quelque temps en contact avec le cylindre animé d'un mouvement de rotation, et enlève le noir de fumée de la surface du cylindre aux points de rencontre. Il suffira de mesurer avec une règle graduée les écartements des lignes formées, pour obtenir une série de valeurs proportionnelles aux accroissements de la plante examinée.

L'appareil qui vient d'être décrit et figuré est conforme en principe à celui qui a été décrit et figuré par Wiesner. Il n'en diffère que par quelques points. Les plantes de *Dahlia* en pots et les germinations de *Phaseolus* cultivées en pots sont d'un emploi commode pour les expériences à l'aide de l'auxanomètre. J'ai surtout employé ces dernières germinations, pour montrer le mode d'emploi de l'appareil dans un cours de physiologie végétale (1).

152. La période de grande croissance.

Tous les organes végétaux en voie de croissance (racines, tiges,

(1) Remarquons encore qu'on peut, depuis quelque temps, se procurer de bons auxanomètres chez Albrecht, mécanicien de l'Université de Tubinge.

feuilles, etc.,) n'éprouvent pas un accroissement égal pendant des temps consécutifs égaux, alors même que les conditions extérieures du milieu resteraient constantes. C'est là un fait auquel on doit attribuer une importance fondamentale au point de vue de la physiologie. Au début de son développement, tout organe végétal croît lentement; mais sa vitesse de croissance augmente peu à peu, passe par un maximum, puis décroît jusqu'à devenir nulle. Pour se rendre compte d'une façon générale de ce phénomène, il suffit de placer quelques graines de pois gonflées dans un cristallisoir ne contenant que l'eau nécessaire pour qu'elles soient à demi submergées. On peut aussi fixer une graine de pois ou de haricot qui commence à germer, à l'aide d'ouate dans l'orifice du bouchon d'un vase en verre rempli d'eau, de manière que la radicule se développe dans le liquide. La germination se fera à l'obscurité, sous une température aussi constante que possible (20° C. environ), et on mesurera chaque jour, à la même heure, la longueur des radicules. On remarquera que la vitesse de l'accroissement, relativement minime au début, va graduellement en augmentant, atteint plus ou moins tôt un maximum (le 9[e] jour dans mes expériences, effectuées à 16° C.), puis diminue. L'expérience qui va être indiquée nous permettra de montrer la période de grande croissance dans toute la longueur de la racine. On fait germer dans de la sciure humide et meuble quelques graines gonflées de *Pisum* ou de *Phaseolus*. Lorsque leurs radicules auront atteint une longueur d'1 cm. et qu'elles auront reçu chacune un point de repère à l'encre de Chine, sur leur partie supérieure, les germinations seront déposées dans une caisse à parois en verre remplie de terre, qui sera décrite et figurée quand nous nous occuperons de l'influence de la pesanteur sur les racines. Il est facile de s'assurer, par des mesures prises toutes les 24 heures et pour lesquelles il n'est point nécessaire de retirer les matériaux d'étude de la terre, que les racines qui se développent à l'obscurité sous une température aussi uniforme que possible croissent d'abord lentement, puis de plus en plus rapidement, et enfin de nouveau lentement. Ces expériences qui nous donneront une idée générale du phénomène seront suivies d'autres, qui nous feront plus spécialement connaître la période de grande croissance.

Nous laisserons gonfler dans l'eau pendant 24 heures des graines bien conformées de *Pisum*, de *Phaseolus* ou de *Vicia Faba*. Les graines seront placées ensuite dans de la sciure humide, qui a été au préalable frottée entre les paumes des mains et déposée en une couche aussi meuble que possible dans de vastes caisses en bois ou dans de grands pots à fleurs. Il faudra veiller aussi à ce que les racines qui vont se former n'aient pas à subir d'inflexion pour prendre une direction verticale. Les graines de *Vicia* seront placées dans la sciure de bois de telle sorte que leur micropyle soit dirigé vers le bas. Les graines de *Phaseolus* seront déposées horizontalement, de ma-

nière que leur future racine principale forme un angle droit avec l'axe longitudinal de la graine. Lorsque les racines auront atteint une longueur de 1,5 à 2 cm., les germinations seront retirées de la couche de sciure, soigneusement lavées, séchées à l'aide d'un linge mou et marquées de points de repère. Il convient d'employer de l'encre de Chine broyée dans une légère quantité d'eau sur une plaque de porcelaine, et de tracer de fins traits sur les matériaux d'étude, au moyen d'un pinceau de marte. L'écartement des traits peut être, suivant les cas, de 1, 1,5 ou 2 mm. Le premier trait sera tracé par conséquent à 1, 1,5 ou 2 mm. du sommet végétatif de la racine, le second à 1, 1,5 ou 2 mm. du premier et ainsi de suite. Pour pouvoir tracer ces traits sans difficulté, on emploie une lame de liège de 2 cm. environ d'épaisseur, qui a reçu sur son côté gauche, à l'aide d'une lime ronde, diverses grandes entailles; de ces dernières partent, dans diverses directions à la surface du liège, quelques gouttières pratiquées au moyen d'une lime ronde plus mince. On cherche alors par tâtonnements dans quelle entaille la graine se laisse introduire de manière à pouvoir loger sa racine dans une gouttière. A côté de celle-ci, on place une échelle graduée en millimètres. Les traits tracés au pinceau doivent être sur le prolongement des traits de la règle graduée. Les germinations, sur les racines desquelles on a tracé des points de repère, seront alors fixées à l'aide de longues épingles dans des vases cylindriques en verre de la manière représentée par la fig. 96. J'ai employé des vases cylindriques de 30 cm. environ de hauteur et 7 à 8 cm. de diamètre. La lame de liège *K*, fixée sur la face inférieure du bouchon de verre avec de la cire à cacheter, sert à recevoir la pointe des épingles. Le fond du vase est recouvert d'une couche d'eau, afin que les racines soient enveloppées d'air humide. Quand cela semblera nécessaire, on pourra encore arroser les racines d'un peu d'eau. On place les vases dans l'obscurité et on soumet les germinations à une température aussi constante que possible (par exemple à 20° C.).

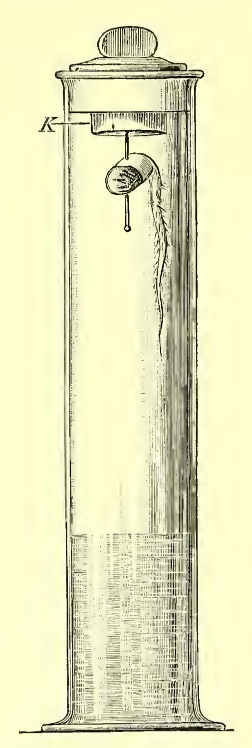


Fig. 96. — Vase cylindrique en verre pour la culture des germinations.

Après 12 ou 24 heures, il sera possible de démontrer, à l'aide des mesures effectuées, que la croissance de la zone la plus jeune, la plus proche du sommet végétatif, n'a pas été extrêmement active. Dans la zone qui vient ensuite, il s'est produit un accroissement considérable. Mais le maximum de croissance n'a eu lieu que dans une des zones suivantes. Ces zones sont suivies d'autres dans lesquelles on constate

que la croissance a été plus lente ; enfin les portions les plus âgées de la racine n'ont subi aucun accroissement. Les zones âgées des racines ont dépassé le stade où leur croissance est à son maximum, les plus jeunes n'y sont pas encore parvenues. Dans chaque zone transversale d'un organe végétal, comme d'ailleurs dans l'organe tout entier, la vitesse de croissance, d'abord minime, va en augmentant, passe par un maximum, puis va en décroissant. Nous observerons aussi que les zones transversales les plus jeunes d'une racine, dont la croissance, par exemple, n'a pas été active pendant 12 heures, peuvent croître plus énergiquement pendant les 12 heures suivantes. A un moment donné, la vitesse de croissance atteint nécessairement son maximum dans ces zones, mais cette vitesse ne tarde pas à diminuer. Il sera donc instructif, en général, d'observer longtemps la croissance des tranches d'une racine et de mesurer de temps en temps leurs accroissements. Mais il se présente ici une difficulté, qui n'est cependant pas insurmontable, c'est que les traits d'encre de Chine tracés sur les racines sont découpés par suite de la croissance.

Dans les expériences sur la croissance des racines, l'observateur verra son attention attirée sur ce fait remarquable que la longueur de la région de croissance, c'est-à-dire la longueur de la région marquée au début, reste toujours très minime, même après un certain temps (après 20 heures, par exemple). La région de croissance de la racine a une longueur (chez les *Pisum*, *Phaseolus*, etc., par exemple) qui varie seulement entre 4 et 8 mm. environ, suivant l'espèce de graine que l'on a employée et les différences individuelles. La région de croissance de la tige, comme nous le verrons, est au contraire beaucoup plus longue (1).

Nous nous occuperons maintenant de la période de grande croissance des organes caulinaires. La marche de la croissance de la tige ne sera pas très difficile à établir. Nous cultiverons des germinations de *Phaseolus* ou de *Pisum*, enracinées dans une terre meuble de jardin, à l'abri de la lumière et dans des conditions de température aussi uniformes que possible. De simples mesures, répétées de jour en jour, nous permettront de constater que la croissance des entre-nœuds (l'entre-nœud épicotylé et les suivants), qui est d'abord lente, s'effectue de plus en plus rapidement, pour acquérir au bout d'un certain temps son maximum de vitesse et se ralentir de nouveau. Les germinations qui croissent dans l'obscurité (j'ai expérimenté, par exemple, sur des plantules de *Pisum* provenant de grandes graines) peuvent, dans certains cas, développer de très longues tiges formées d'un grand nombre d'entre-nœuds. Un de mes matériaux d'étude avait développé une tige de plus de 500 mm. de longueur et possédant sept entre-nœuds. En mesurant la longueur des entre-nœuds formés, on remarque que les plus âgés

(1) Voy. Sachs, *Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg*, vol. 1, p. 413.

sont relativement courts, qu'ils sont suivis de plus longs (chez mes plantes, le cinquième était le plus long), et que les plus jeunes sont de nouveau plus courts. Un phénomène qui s'observe très généralement, c'est que les entre-nœuds successifs, complètement allongés d'une tige, n'ont pas la même longueur, ce qui nous conduit à admettre que l'énergie de croissance des organes caulinaires dépend de causes internes de croissance.

Nous cultiverons des germinations de *Phaseolus multiflorus* dans des pots à fleurs en l'absence de lumière. Lorsque les entre-nœuds épicotylés auront atteint une longueur de 50 mm. environ, nous marquerons sur les tiges les plus robustes une série de traits écartés de 3 ou 5 mm. (pour la méthode, voy. § 146). Les matériaux d'étude resteront exposés dans l'obscurité à une température aussi constante que possible. Toutes les 24 heures, nous mesurerons la grandeur de l'accroissement dans chacune des tranches transversales. A l'inverse de ce qui se passe dans la racine, la région de croissance de la tige est très étendue. J'ai trouvé, par exemple, une région de croissance de 35 mm. dans l'axe épicotylé de *Phaseolus*. Dans les tranches les plus jeunes (les supérieures), la croissance n'est pas très accusée au début des recherches, mais elle est déjà plus active dans les suivantes. Le maximum de croissance se trouve dans la troisième ou la quatrième tranche; au delà, la vitesse de croissance diminue de nouveau. Si on poursuit ces observations pendant longtemps, on remarquera que la croissance devient d'abord nulle dans les tranches les plus âgées, que le maximum de vitesse se déplace et qu'il ne se trouve plus dans la troisième ou dans la quatrième zone, mais dans une plus jeune. Plus tard, le maximum de vitesse abandonnera aussi cette zone (1).

Pour constater l'existence d'une période de grande croissance dans les feuilles, on cultivera des plantes de courge ou de tabac dans de grands pots à fleurs, que l'on placera, quand elles auront étalé quelques feuilles, sous de hautes cloches en verre dans une pièce dont la température est aussi constante que possible, par exemple dans une chambre tournée vers le nord. Les matériaux d'étude seront soustraits à l'action de la lumière. Nous tracerons quelques points de repère, à l'encre de Chine, près de la base du limbe de quelques jeunes feuilles. A l'aide d'une règle graduée en millimètres, nous mesurerons quotidiennement l'écartement entre ce trait à la base et le sommet d'une feuille. Il faudra, évidemment, toujours noter exactement les conditions de température. Lorsqu'en mai ou en juin, j'examinais la croissance longitudinale des feuilles d'*Aristolochia sipho* se développant en pleine terre, le phénomène de la période de grande croissance n'était distinct que sous une température assez constante. L'accroissement au bout

(1) Voy. Sachs, *Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg*, vol. 1, p. 99, et Wortmann, *Botan. Zeitung*, 1882.

de 24 heures était d'abord de 5 mm., ensuite de 7, puis de 10. Plus tard, par suite de fluctuations importantes dans la température, de grandes irrégularités se manifestaient dans la croissance des feuilles. Il sera néanmoins instructif de faire des observations de ce genre, parce qu'elles nous montrent qu'il paraît important, pour l'étude de la période de grande croissance des organes végétaux, de ne point perdre de vue les forces extérieures qui influent sur la croissance (1).

Lorsqu'il s'agira de déterminer les causes de la période de grande croissance d'organes entiers, nous aurons notamment à examiner les causes qui modifient la vitesse de croissance pendant le développement de chaque zone partielle de l'organe végétal. Cette question a été traitée dans le § 145, aussi longuement que le permettent les connaissances actuelles, et de manière à rendre inutiles ici de nouvelles données. Au début de la croissance d'un organe entier s'additionnent un petit nombre seulement d'accroissements partiels peu étendus, plus tard un nombre supérieur d'accroissements plus considérables; puis, finalement, les accroissements partiels deviennent insignifiants.

153. La vitesse et l'énergie de la croissance.

L'observation quotidienne nous apprend que la vitesse de croissance des plantes est en général très variable. Les individus d'une seule et même espèce végétale, pris isolément, montrent même des vitesses de croissance différentes dans les mêmes conditions extérieures du milieu. Le physiologiste, pendant ses expériences, doit toujours avoir soin de porter son attention sur les différences individuelles que présentent ses matériaux d'étude et qui sont souvent de nature à donner des mécomptes. Il sera donc instructif d'entreprendre, une fois pour toutes, l'expérience que nous allons indiquer. On fait germer dans de la sciure humide un grand nombre de graines de pois, de haricots ou d'autres plantes, aussi bien conformés que possible et présentant les mêmes caractères. En mesurant exactement les racines, les organes caulinaires et les feuilles au bout d'un certain temps, nous verrons que la vitesse de croissance des organes n'a pas été la même chez les divers individus de la même espèce, bien qu'ils se soient tous développés sous l'influence de conditions extérieures identiques. Les différences individuelles, qui se présentent souvent dans les matériaux d'étude, seront nettement mises en évidence par des observations de ce genre.

Dans des conditions extérieures de milieu identiques, les organes de même nom d'espèces végétales différentes présentent aussi une vites e de croissance spécifiquement différente. Les tiges et les feuilles d'*Aris-*

(1) Voy. Prantl, *Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg*, vol. 1, p. 371.

tolochia sipho et d'*Humulus lupulus*, par exemple, croissent d'une façon relativement rapide; les mêmes organes chez d'autres plantes, très lentement. La tige de *Polygonum Sieboldi*, par exemple, croît aussi très rapidement. J'ai trouvé, notamment, qu'une tige de cette plante, qui possédait le 3 mai une hauteur de 60 cm., avait atteint une hauteur de 71 cm. au bout de 24 heures, dans une atmosphère chaude et humide (la température nocturne, à 11 heures, était encore de 15° C.).

L'énergie de la croissance est une fonction de la vitesse de croissance et du temps que dure la croissance. L'énergie de la croissance, par conséquent l'accroissement atteint finalement, n'est pas uniforme dans les divers entre-nœuds d'une même tige. Dans des germinations de pois, par exemple, se développant pendant quelques semaines à l'obscurité, si on mesure la longueur de chacun des entre-nœuds lorsque la croissance de la tige a complètement cessé, on remarque que les entre-nœuds inférieurs sont courts, les moyens longs, et les supérieurs de nouveau courts (1).

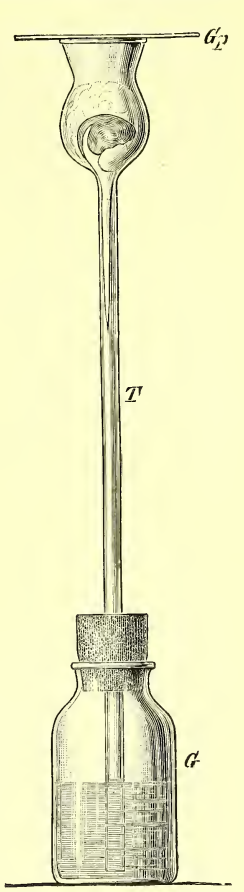


Fig. 97. — Appareil pour l'étude de la croissance de la racine.

Il sera intéressant de s'assurer ensuite, d'une façon toute générale, qu'il est possible de mesurer l'accroissement que subissent les organes végétaux en peu de temps (en 20 minutes par exemple). J'ai procédé de la manière qui va être indiquée. Un tube à entonnoir (fig. 97, T) traverse le bouchon en caoutchouc d'un petit vase en verre contenant une légère quantité d'eau. Dans l'entonnoir, on porte une graine de *Pisum* ou de *Phaseolus* en germination dans la sciure humide, et on étend sur la graine un peu d'ouate mouillée. L'entonnoir sera fermé par une petite lame de verre *Gp*. La radicule croît convenablement dans l'atmosphère humide qui l'entoure; elle s'allonge considérablement. Nous plaçons ensuite notre appareil sur un clinostat (qui sera décrit et figuré plus loin), dont l'axe est dirigé verticalement, et nous imprimons un lent mouvement de rotation à la germination afin d'éviter toute flexion héliotropique. Avant que le clinostat ne soit en mouvement, nous mettons l'extrémité de la racine dans le champ visuel d'un microscope dirigé horizontalement à l'aide d'un support convenable. Nous n'emploierons évidemment qu'un faible grossissement. Le clinostat est alors mis en rotation, et au bout de 20 minutes, par

(1) Voy. Detmer, *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, 1883, p. 248.

exemple, lorsque la racine se montrera de nouveau dans le champ visuel du microscope, nous pourrons constater que l'organe végétal s'est allongé, surtout lorsque l'expérience aura été effectuée à une température relativement élevée (20 à 28° C.). Des mesures précises ne pourront être convenablement effectuées qu'avec l'aide d'un oculaire à micromètre.

Il est instructif aussi de semer quelques spores de *Mucor Mucedo* sur du pain humide placé, sous une cloche en verre, dans un cristallisoir que l'on met ensuite sur un clinostat; puis on le fait tourner lentement dans un plan horizontal, afin d'observer la croissance du champignon. Lorsque les pédicelles sporangifères seront en voie de développement, on dirigera un cathétomètre avec lunette horizontale vers la culture de *Mucor*. Cet instrument sera disposé de manière à pouvoir observer nettement un pédicelle fructifère avec un sporange, et de telle sorte que le sommet du sporange coïncide avec l'un des traits d'une échelle micrométrique introduite dans le tube de la lunette. Si l'on met ensuite le clinostat en mouvement, on observera au bout de peu de temps (d'une heure, par exemple) que le pédicelle fructifère de *Mucor* aura subi un certain accroissement lorsqu'il se montrera de nouveau dans le champ visuel de la lunette. Un pédicelle fructifère de *Mucor* s'allonge souvent en une heure de 2 à 3 mm. (1).

154. Les torsions.

Les entre-nœuds et les feuilles présentent fréquemment des torsions. On observe surtout de fortes torsions aux entre-nœuds les plus âgés des tiges sarmenteuses, sur lesquelles nous reviendrons plus tard, ainsi que sur les plantes développées dans l'obscurité. C'est ainsi, par exemple, que les inflorescences d'*Hyacinthus orientalis* développées en l'absence de lumière présentent souvent de fortes torsions. Il en est de même chez les axes hypocotylés d'*Helianthus annuus* qui ont crû dans l'obscurité, alors que ces mêmes organes ne montrent pas de torsion chez des germinations de cette espèce végétale dans les conditions naturelles. Si on dépose des graines d'*Helianthus annuus* dans la sciure humide, il sera facile de s'assurer des faits qui viennent d'être indiqués, en cultivant certains matériaux d'étude dans l'obscurité et d'autres à la lumière. On remarque également que les torsions des axes hypocotylés étiolés des germinations d'*Helianthus* ne se produisent que vers la fin de leur croissance longitudinale.

Beaucoup de torsions sont dues à des causes internes de croissance. Les autres, comme celles dont il est question ici, sont produites d'une toute autre manière. Une robuste tige de courge croissant dans

(1) Voy. Sachs, *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie*, 1882, p. 569.

pot de fleurs est attachée à un tuteur, de manière à éviter toute flexion. Sur la face supérieure des pétioles de quelques feuilles et sur la nervure médiane de leurs limbes, on trace à l'encre de Chine une série de traits disposés en ligne droite, puis on retourne la plante dans l'obscurité, après avoir assujetti la terre dans le pot à l'aide de traverses de bois. Après quelques heures, on observe une flexion des pétioles, vers le haut, produite par diverses causes (géotropisme, effets photoépinastiques), mais comme le poids des limbes supporté par les pétioles n'est presque jamais réparti également sur les deux faces du plan de flexion, il se produira des torsions dont il sera facile de juger de l'extension en examinant les traits d'encre de Chine qui ne sont plus en ligne droite. La croissance pourra rendre ces torsions permanentes (1).

155. Quelques phénomènes de nutation spontanée.

Nous portons dans la sciure humide quelques graines gonflées de *Vicia Faba*, le micropyle tourné vers le bas. En examinant avec soin nos germinations au moment où la tigelle commence à apparaître entre les cotylédons, nous remarquons qu'elles possèdent des racines dirigées verticalement vers le bas. Nous fixons ensuite quelques germinations de *Vicia*, à l'aide d'épingles, dans le vase représenté par la fig. 96, que nous plaçons à l'abri de le lumière. Après 24 heures, nous constatons que les racines ont abandonné leur direction verticale primitive, indiquée sur la fig. 98 par une ligne pointillée. Les racines se sont incurvées de la façon représentée par la même fig. C'est là un phénomène exclusivement provoqué par une incurvation de l'axe hypocotylé et de la partie supérieure de la racine. L'extrémité de la racine en voie de croissance, dirigée obliquement sous l'influence de la nutation, tendra alors, en vertu de sa sensibilité géotropique, à se tourner vers le bas par une courbure. Diverses autres papilionacées se comportent, sous ce rapport, identiquement de la même manière que les germinations de *Vicia*. Il faut encore remarquer que les racines montrent cette nutation, non seulement dans l'air humide, mais encore, quoique à un degré moindre, lorsqu'elles se développent dans une terre meuble ou dans la sciure de bois. Si on considère comme

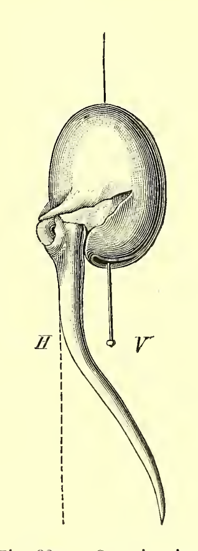


Fig. 98. — Germination de *Vicia Faba*.

(1) Voy. H. de Vries, *Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg*, vol. I, p. 268, et Sachs, *Lehrbuch d. Botanik*, 1874, p. 833.

postérieure, dans les germinations de papilionacées, la face qui forme la convexité de la tigelle (fig. 98, *H.*), et comme antérieure la face opposée, vers laquelle les racines se tournent toujours (*V*), le plan médian des plantules coïncide exactement avec celui dans lequel les deux cotylédons se rejoignent. Les courbures des racines, résultant de la nutation de l'axe hypocotylé et de la base des racines, se produiront toujours dans le plan médian des germinations. Il est clair qu'on doit tenir compte de ce fait dans les expériences sur les racines couchées horizontalement. On placera des germinations de *Vicia*, par exemple, sur un sol horizontal de telle sorte qu'elles reposent sur le sol par leur côté droit ou gauche, par conséquent par la face extérieure de leurs cotylédons (1).

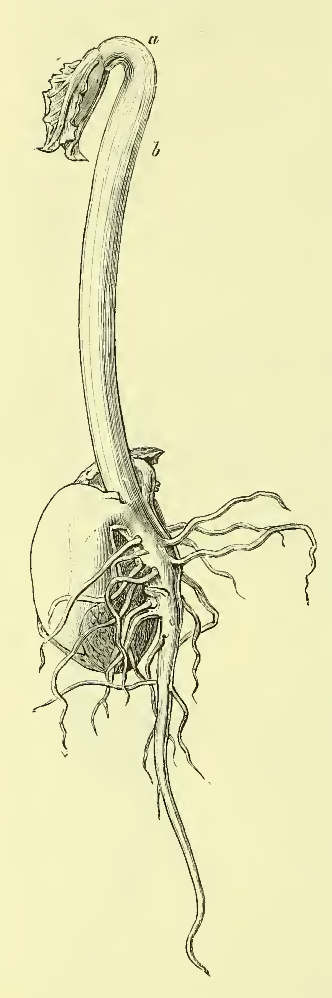


Fig. 99. — Germination de *Phaseolus multiflorus*.

Le premier entre-nœud de beaucoup de dicotylées présente d'intéressants phénomènes de nutation. Nous les examinerons de plus près, en employant des *Phaseolus multiflorus* comme matériaux d'étude. En coupant en travers une graine portée dans l'eau pour gonfler, nous remarquons une assez forte incurvation au sommet de la tigelle de l'embryon, située entre les cotylédons. Pendant la germination des graines, cette incurvation va en augmentant, de sorte que le bourgeon terminal sort du sol complètement incliné. La convexité de l'incurvation se trouve maintenant, et plus tard aussi, sur la face cotylédonaire en arrière de l'axe épicotylé, par conséquent postérieure, et ce phénomène de nutation est déterminé par une croissance plus active sur cette face postérieure (voy. fig. 99). La convexité de l'incurvation se trouve en *a*. Si nos plantules de *Phaseolus* continuent leur développement dans l'obscurité, la nutation s'observe longtemps à la partie supérieure de la tigelle; ce n'est que dans les derniers stades de la germination que le bourgeon terminal se redresse verticalement; ce qui a lieu très tôt, au contraire, lorsqu'on expose, à l'action de la vive lumière diffuse du jour, de jeunes germinations dont le bourgeon terminal vient de s'échapper du sol.

(1) Voy. Sachs, *Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg,* vol. I, p. 402.

Si on trace un trait à l'encre de Chine à l'endroit de l'axe épicotylé de *Phaseolus* qui montre la plus forte incurvation sous l'influence de la nutation (fig. 99, en *a*), on remarque que ce trait se trouve en *b* après 24 ou 48 heures, l'objet à examiner ayant naturellement séjourné à l'obscurité pendant ce temps. Il en résulte que la partie de l'épicotyle qui était au début sous l'influence de la nutation se redresse progressivement par suite de sa croissance. La nutation s'exerce alors sur les parties caulinaires récemment formées.

L'angle formé par la partie de l'axe épicotylé de *Phaseolus* sous l'action de la nutation est d'ordinaire de 180°, de sorte que le bourgeon terminal de la partie de la tige qui croît vers le haut est alors dirigé verticalement vers le bas. Par une observation minutieuse des germinations de *Phaseolus*, surtout de celles à croissance très active, on constatera cependant que cet angle ne reste pas toujours le même. S'il est un jour de 180°, il peut être, par exemple, le lendemain, de 90°, et le troisième jour de 145° (1).

II. CONDITIONS NÉCESSITÉES PAR LA CROISSANCE ET INFLUENCE DES ACTIONS EXTÉRIEURES SUR L'ACCROISSEMENT.

156. Nécessité d'aliments pour les organes végétaux en voie de croissance.

Un organe végétal ne peut effectuer normalement sa croissance que s'il possède à sa disposition les aliments et les forces que nécessite la croissance de toutes ses cellules. Lorsque des germinations se développent, par exemple, dans une obscurité complète, la croissance cesse dès que la provision de matières de réserve des graines est épuisée. Il est instructif d'examiner d'un peu plus près les relations qui existent entre l'énergie avec laquelle la croissance s'accomplit et la provision de matières de réserve. Pour cela, nous plantons des semences de *Phaseolus multiflorus* dans de la terre de jardin contenue dans des pots à fleurs. Un pot reçoit des semences aussi grandes que possible; un second, des graines semblables dont on enlève un des cotylédons, lorsque la germination est commencée et que la racine principale a percé le tégument séminal. Dans un troisième pot, on sème de petites graines de *Phaseolus*. La germination se fait dans l'obscurité ou à la lumière. On verra que les plantules provenant de grandes graines se développent plus vigoureusement que celles qui sont

(1) Voy. Wortmann, *Botan. Zeitung*, 1882, n° 52.

issues de petites semences et que celles dont on a enlevé un des cotylédons. Dans mes recherches, effectuées à la lumière, on n'observait point au début de différence saillante dans l'aspect des matériaux d'étude. On n'en constatait que lorsque la première feuille normale s'était dépliée et que le troisième entre-nœud s'allongeait rapidement. Les plantules, issues de grandes graines, possédaient des feuilles considérablement plus grandes et des entre-nœuds plus longs que celles qui avaient été produits par de petites graines ou des graines ayant été privées d'un de leurs cotylédons. Il est facile de comparer, par des mesures, les dimensions des diverses parties des plantes soumises à l'expérimentation. La provision de matières de réserve des graines de haricots est très considérable, de sorte que les premiers stades de la germination dans mes expériences pouvaient se produire d'une façon normale chez toutes. Plus tard, une différence sensible se remarquait dans la croissance des plantes quoique l'activité assimilatrice des matériaux d'étude ne fût pas entravée, et cette différence peut être en majeure partie attribuée à la provision plus ou moins considérable des matières de réserve dans les cotylédons des graines.

157. La teneur en eau des plantes et leur croissance.

Les cellules végétales ne peuvent croître normalement que lorsqu'elles possèdent des quantités d'eau suffisantes. Ce fait est facile à concevoir si on tient compte de divers phénomènes. Bornons-nous ici à remarquer qu'une croissance considérable suppose une dilatation énergique des cellules sous l'action de la turgescence, et que cette dilatation ne peut, à son tour, se produire qu'en présence d'une grande quantité d'eau dans les tissus. La dilatation par turgescence des cellules vient-elle à décroître, les cellules perdant de l'eau, l'énergie de la croissance diminue en même temps. Nous faisons germer des graines de maïs, de pois ou de haricots dans la sciure de bois. Lorsque les racines ont atteint quelques centimètres de longueur, nous les marquons d'un trait d'encre de Chine à 2 cm. de leur sommet, et, à l'aide d'épingles, nous fixons les germinations dans des vases cylindriques convenables de la façon indiquée dans le § 152. Ces vases sont remplis de liquides différents; l'un d'eux est plein d'eau ordinaire; un autre, d'une solution à 0,5% de nitrate de potassium; un troisième, d'une solution à 1,0 % et un quatrième d'une solution à 2,0 %. Les racines doivent descendre verticalement dans les liquides. Après 24 ou 48 heures, nous mesurons l'accroissement des racines. Chacune des recherches sera entreprise sur 3 ou 4 germinations afin d'obtenir des valeurs moyennes. Nous remarquerons que c'est dans l'eau ordinaire que les racines croissent le plus activement. Leur croissance va en diminuant

avec l'augmentation de concentration de la solution de salpêtre, parce-que les solutions salines jouissent de la propriété d'attirer l'eau des cellules et de diminuer ainsi leur turgescence. Les racines ne s'accroissent plus lorsqu'elles se trouvent en contact avec des solutions assez concentrées de nitrate de potassium (des solutions à 10 %, par exemple). Elles se raccourcissent même alors après avoir été plasmolysées (1).

158. La respiration et la croissance.

Comme on l'a déjà montré dans le § 108, il y a certaines plantes qui jouissent de la propriété de croître en l'absence complète d'oxygène libre, bien que la plupart des plantes ne puissent cependant s'accroître que lorsqu'elles ont de l'oxygène à leur disposition. Il est facile de constater ce fait par le procédé qui va être indiqué (2). Deux cloches courbes de verre d'une capacité de 90 c. c. environ (voy. fig. 9) sont remplies d'eau distillée bouillie, puis complètement refroidie en l'absence d'air. Dans chacun des vases, on porte quelques graines de froment ou de pois desséchées à l'air, puis on plonge l'ouverture des vases dans le mercure. Après 24 heures, lorsque les graines sont gonflées, on déplace l'eau dans un de ces vases, jusqu'à ce qu'il n'en reste plus qu'une légère quantité, par de l'air atmosphérique; dans l'autre, par de l'hydrogène pur. Celui-ci est produit par l'action du zinc exempt d'arsenic sur l'acide sulfurique dilué. On le purifie des petites quantités d'hydrogène sulfuré et d'hydrures de carbone qu'il pourrait entraîner, en lui faisant traverser des solutions aqueuses de nitrate d'argent et de permanganate de potassium. Les graines en contact avec l'air germent immédiatement; dans l'hydrogène, il ne se produit point de germination. Cependant, si les graines n'ont pas séjourné trop longtemps dans l'hydrogène (mais seulement 2 à 3 jours), elles germeront encore lorsqu'elles seront exposées à des conditions normales de germination. Il sera instructif aussi d'introduire, dans des vases remplis d'eau dépourvue d'air, retournés sur du mercure, des germinations (de *Pisum*, par exemple) qui possèdent déjà des racines de quelques centimètres, puis de déplacer l'eau par de l'air dans un vase et par de l'hydrogène, au contraire, dans l'autre. Les racines des germinations continuent à germer dans l'air, mais pas dans l'hydrogène, comme il est facile de s'en assurer par des mesures.

Par ce procédé, on pourra prouver aussi que la germination des graines peut encore s'effectuer dans un mélange gazeux très pauvre

(1). Voy. H. DE VRIES, *Untersuchungen über die mechanischen Ursachen der Zellstreckung*, Halle, 1877, p. 56.
(2) Voy. DETMER, *Landwirthschaftl. Jahrbücher*, vol. 11, p. 225.

en oxygène (constitué, par exemple, par de l'air atmosphérique et des quantités d'hydrogène plus ou moins grandes).

Les graines d'espèces végétales différentes ne semblent pas se comporter de la même façon en présence de l'oxygène pur pendant leur germination (1). J'ai trouvé que les grains de froment germent aussi rapidement dans l'oxygène pur que dans l'air atmosphérique. L'oxygène nécessaire est préparé dans une cloche courbe, au moyen d'un mélange de chlorate de potassium et de bioxyde de manganèse. On le dirige, pour le purifier, dans une solution de potasse, et on le recueille de la façon indiquée dans les vases contenant des graines et de l'eau exempte d'air (2).

159. Influence de la pression et de la dilatation sur la croissance.

Il résulte nécessairement de la théorie du phénomène de la croissance que des pressions, dont l'action sur les cellules turgescentes se manifeste par une compression des portions dilatées des cellules (hyaloplasme et membrane cellulaire), doivent provoquer un retard dans la croissance. Inversement, une dilatation de ces parties des cellules aura pour effet d'augmenter la croissance. Les pressions et les dilatations ne sont pas non plus sans influence sur le sens de la plus forte croissance.

Lorsqu'on examine la forme des cellules épidermiques des feuilles allongées d'un grand nombre de monocotylédonées, on observe que ces cellules sont très longuement étirées. Ce phénomène provient essentiellement de ce que les cellules épidermiques de ces organes sont principalement étirées dans le sens longitudinal par la tension des tissus. Mais si on examine un petit lambeau d'épiderme d'une feuille de *Syringa* ou d'une autre dicotylédonée, on constatera que les cellules épidermiques ont la forme de plaques polygonales. C'est là un phénomène qui est évidemment en rapport avec la croissance en surface, suivant deux directions, qui s'effectue d'une façon à peu près semblable dans les feuilles.

Nous pratiquons des sections transversales dans un rameau de *Tilia parvifolia* de 5 mm. environ d'épaisseur. L'image que l'on obtient à l'examen microscopique a déjà été décrite dans le § 39. Nous aurons ici le bois des faisceaux plus spécialement en vue. Nous remarquerons la présence de plusieurs couches annuelles. Le bois de printemps passe insensiblement au bois d'automne dans la même couche annuelle, tandis que le bois de printemps dans chaque couche est nettement tranché du bois d'automne de la couche précédente. Le bois de printemps est caractérisé, notamment, par la présence de larges vaisseaux, dont

(1) La bibliographie antérieure se trouve indiquée dans mon ouvrage intitulé : *Vergleichende Physiologie d. Keimungsprocesses d. Samen*, 1880, p. 272.

(2) Pour ce qui concerne les détails, voy. WIELER et JOHANNSSEN, in *Untersuchungen aus d. botan. Institut zu Tübingen*, vol. 1, p. 216 et 715.

le nombre va progressivement en diminuant. Le bois d'automne est composé uniquement d'éléments à cavités étroites.

Il y a longtemps déjà que Sachs a attiré l'attention sur la relation qui existe entre les différences de structure du bois de printemps et du bois d'automne, d'une part, et les variations d'intensité de la tension transversale pendant une période végétative, d'autre part. Au printemps, l'écorce subit manifestement une tension moindre que plus tard, lorsque le développement du bois aura fait de nouveaux progrès. Il en résulte que la pression supportée par le bois est moindre au printemps que lorsque l'année est plus avancée. C'est donc à cette circonstance qu'il faudra attribuer la cause du phénomène en vertu duquel les éléments ligneux formés au début de la période végétative, par les cellules du cambium, possèdent une large cavité, alors que le cambium ne produit plus tard, surtout vers l'automne, que des éléments ligneux à lumière étroite.

Cherchons à nous rendre compte de la façon dont une augmentation ou une diminution de pression, provoquée artificiellement dans son épaisseur, agit sur un organe végétal en voie de croissance. Comme matériaux d'étude, nous ferons usage de branches âgées de 2 à 3 ans de diverses plantes herbacées ou ligneuses. On obtiendra une augmentation de pression en enroulant en spirale, au commencement d'avril, un cordon assez épais autour de la branche sur une longueur de quelques centimètres. Les divers tours de spire devront être aussi rapprochés que possible et le cordon sera fortement tendu. Pour déterminer une diminution de pression, on effectuera des incisions radiales, équidistantes, d'une longueur de 3 cm. environ, dans le tissu cortical et le tissu libérien de branches âgées de 3 ans. En examinant les rameaux au mois d'août, on remarquera que le diamètre des branches est beaucoup moindre au-dessous des tours de la ligature que plus haut ou plus bas, et que la diminution de pression a provoqué, d'autre part, une augmentation sensible de la croissance en épaisseur à l'endroit des incisions. J'ai obtenu de bons résultats en employant des *Salix cinerea,* comme matériaux d'étude, pour les expériences sur l'influence exercée par une augmentation de pression sur la croissance en épaisseur des branches. La ligature, faite au commencement d'avril, était enlevée au commencement d'août. A l'endroit expérimenté, sous la ligature, la branche était d'une épaisseur moindre à la fin des recherches que plus haut ou plus bas (1).

(1) H. DE VRIES (voy. *Flora,* 1872, nº 16, et 1875, nº 7), a effectué des recherches sur les différences provoquées dans la structure du bois par une augmentation ou une diminution artificielle de la pression.

160. Influence de la température sur la croissance.

On sait que dans tous les organes végétaux la vitesse de la croissance varie avec la température. Les phénomènes de croissance ne s'observent qu'entre certaines limites de température; à une température suffisamment basse ou suffisamment élevée, la croissance cesse complètement. Nous prouverons d'abord expérimentalement ce fait pour les basses températures. Dans l'appareil que représente la fig. 97, nous portons une germination de pois bien conformée, que nous avons laissé croître dans de la sciure meuble et humide jusqu'à ce que sa racine ait atteint une longueur de 3 à 4 cm. J'ai trouvé, par exemple, que la racine en 8 heures, sous une température de 20° C., avait subi un allongement de 5 mm. En laissant alors l'appareil pendant 22 heures dans une pièce non chauffée, sous une température de 1 à 2° C., il n'était pas possible de constater d'accroissement sensible au bout de ce temps. Cependant on pouvait en observer (de 10 mm.), lorsque l'appareil séjournait ensuite pendant 18 heures dans une pièce où régnait une température de 15° C.

Les recherches approfondies au sujet de l'influence exercée par des températures différentes sur la vitesse de croissance des plantes sont liées à de nombreuses difficultés; cependant, malgré cela, nous essayerons de nous rendre compte des faits les plus importants. Nous emploierons des germinations comme matériaux d'étude. Les graines dont elles seront tirées devront avoir été soigneusement choisies. Nous n'utiliserons que des graines complètement mûres, bien conformées et de même forme. Nous verrons qu'elles germent convenablement sous des conditions favorables de température (environ 20 à 25° C.); nous remarquerons bientôt aussi que la faculté germinative de ces mêmes graines diminue sous des températures relativement élevées ou relativement basses. Les graines (nous expérimenterons sur le *Pisum*, le *Phaseolus*, le *Zea*, le *Cucurbita*, etc.) seront d'abord plongées dans l'eau pendant 24 heures pour être complètement gonflées. Puis nous les placerons dans de la terre de jardin mouillée, et dans une position telle que les racines principales qu'elles laisseront échapper n'aient pas à s'incurver beaucoup pour croître verticalement vers le bas. La terre employée est la terre de jardin riche en humus que l'on emploie dans la culture des plantes de serres. Avant d'être utilisée, elle sera mouillée de manière à donner une masse finement granuleuse lorsqu'on la triturera entre les doigts, puis elle sera jetée sur un tamis dont les ouvertures mesurent 1,5 mm. Cette terre meuble sera alors versée dans un grand pot à fleurs. Les graines gonflées seront déposées à des distances déterminées les unes des autres dans la couche où elles doivent accomplir leur germination, et finalement recouvertes de terre.

Nous veillerons spécialement à ce que tous les matériaux d'étude soient autant que possible exactement à la même profondeur. Chaque pot à fleurs sera pourvu d'un thermomètre indiquant la température de la couche qui contient les graines en germination. Il faudra aussi avoir soin de remplacer l'eau à mesure qu'elle s'évapore. Les vases qui serviront au gonflement des graines et les pots à fleurs contenant les graines gonflées, devront être exposés dès le début aux conditions de température dont nous voulons constater l'action sur la croissance. Pour expérimenter à 25, 30, 35, 40 ou 45° C., nous serons obligés de placer les vases de culture dans un thermostat, où la température désirée peut-être conservée constante. Nous emploierons, par exemple, l'appareil que représente la fig. 62, mais en ayant soin de placer la cloche de verre sur des griffes pour assurer le renouvellement de l'air à l'intérieur de l'appareil. Il sera souvent préférable d'effectuer les observations à 5, 10, 15, 20° C. sans thermostat, dans des pièces convenables non chauffées ou chauffées par de bons poêles dont le dégagement de chaleur peut être régularisé (en été, par exemple, dans des chambres tournées vers le nord ou dans des caves). Il faudra surtout avoir soin d'éviter qu'il ne se produise, de n'importe quelle façon, des variations considérables de la température dans le cours de 24 heures. Il y aura donc lieu de contrôler plusieurs fois par jour la température du milieu dans lequel se trouvent les graines en germination.

C'est ce que l'on fera évidemment aussi lorsqu'on se servira de thermostats. Enfin, il conviendra de noter toutes les températures relevées, afin de pouvoir en déduire une moyenne.

Chacune de ces recherches durera de 48 à 72 heures ou même plus longtemps. Elle commencera dès le moment où les graines gonfleront. Après un temps déterminé, nous retirerons les germinations du sol et nous mesurerons la longueur de leurs racines. Les nombres que l'on btiendra ainsi permettront aisément d'évaluer la longueur moyenne atteinte par une racine pendant un temps déterminé et sous une température donnée. A 25° C., par exemple, la racine principale de *Zea Mays* peut atteindre en 48 heures une longueur de 30 mm. A 34° C., la croissance de la racine de *Zea* peut dépasser 50 mm. en 48 heures, tandis qu'une température de 42° C. lui est fortement préjudiciable. La racine ne croît que lentement aussi à une température de 15° C.; elle n'atteindra pas alors une longueur considérable, même après 96 heures.

La croissance des cellules végétales, qui débute à une certaine basse température (température minima), augmente de vitesse jusqu'à un certain degré de température (température optima) pour diminuer ensuite au fur et à mesure que la température s'élève. La limite supérieure, au-delà de laquelle la croissance ne se produira plus, a été appelée température maxima. Les minima, optima et maxima ne sont d'ailleurs pas les mêmes dans la croissance d'organes végétaux diffé-

rents. Il ne sera pas difficile de montrer, pour ce qui concerne les minima de température, par exemple, que certaines graines ne germent absolument pas à des températures qui permettent déjà l'évolution des organes embryonnaires d'autres graines. Les graines de *Cucurbita* ne germent pas à 12° C., même après un grand laps de temps, alors que les graines de froment et de *Phaseolus multiflorus* peuvent effectuer leur germination à cette température (1).

Le tableau suivant montre les valeurs des températures critiques dans la germination de quelques graines.

	Limite inférieure, en degrés C.	Optimum, en degrés C.	Limite supérieure, en degrés C.
Triticum vulgare	5,0	28,7	42,5
Phaseolus multiflorus	9,5	33,7	46,2
Pisum sativum	6,7	26,6	—
Zea Mays	9,5	33,7	46,2
Cucurbita Pepo	13,7	33,7	46,2

161. Périodicité de la croissance.

Chez un grand nombre de végétaux, le cours général du développement est interrompu par des périodes de repos qui affectent leurs organes à certaines époques. C'est ainsi que la plupart de nos plantes herbacées et ligneuses indigènes perdent leurs feuilles en automne, et que les bourgeons, déjà formés, traversent l'hiver à l'état de repos pour s'épanouir au printemps suivant. Il n'est pas douteux que nous avons ici un phénomène provoqué à l'origine par les changements de saisons; mais, sous la forme qu'il présente actuellement, il n'est plus sous la dépendance directe des facteurs extérieurs. Lorsque les mêmes agents extérieurs agissent d'une façon constante et suivant une alternance déterminée sur un individu végétal ou sur des générations d'individus, les plantes acquièrent par la suite des propriétés spécifiques qui peuvent même devenir héréditaires, et ces propriétés se montrent parfois si bien fixées qu'elles occupent la première place dans l'économie générale des plantes. Il faut notamment tenir compte de ce fait, pour résoudre la question de savoir pourquoi les bourgeons d'hiver de nos plantes, ligneuses et herbacées ne s'épanouissent pas toujours en hiver aussitôt qu'ils sont exposés à une température plus élevée et dans des conditions favorables. La période de repos des bourgeons a été évidemment provoquée au début par le changement des saisons, mais elle est devenue finalement, comme on l'a vu, une propriété spécifique des plantes, qui ne peut être annulée qu'après une longue période de temps.

(1) Bibliographie : Sachs, in *Jahrbücher f. wissenschaftl. Botanik* de Pringsheim, vol. 2; Fr. Haberlandt, in *Wissenschaftl.-praktischen Untersuchungen auf d. Gebiete d. Pflanzenbaues,* et Detmer, *Vergleichende Physiologie des Keimungsprocesses der Samen*, 1880.

Si on plonge dans l'eau, comme j'ai eu l'occasion de le faire, des branches de *Pavia* coupées vers le milieu de janvier, portant plusieurs rameaux ainsi que des bourgeons sains, et qu'on les expose dans une serre à une température de 20° C. environ, les bourgeons ne seront complètement épanouis qu'au milieu du mois de mars. Cependant ces bourgeons s'ouvrent déjà après quatre semaines, lorsque les branches de *Pavia* sont placées en serre à la fin du mois de février. En se reportant à ce qui a été dit plus haut, on reconnaîtra que les bourgeons d'hiver ont pour propriété spécifique de subir pendant leur période de repos certaines modifications qui leur permettront finalement de s'épanouir. Il faut attacher une grande importance à l'extrême lenteur de ces modifications, car on doit lui attribuer la cause du développement si tardif des bourgeons de rameaux placés très tôt en serre. Les modifications dans les bourgeons vont en progressant graduellement, jusqu'à ce qu'une température supérieure provoque rapidement leur éclosion. On constate d'ailleurs une grande variation dans l'énergie avec laquelle se développent les bourgeons d'hiver de plantes différentes, lorsqu'on plonge dans l'eau l'extrémité inférieure de leurs rameaux coupés et qu'on les place dans une pièce chauffée. Les bourgeons de saules, par exemple, croissent très rapidement; il en est de même des bourgeons de *Syringa* (j'ai trouvé que des rameaux coupés vers la fin du mois de février avaient déjà complètement étalé leurs feuilles, dans une serre, à peine quinze jours plus tard). Mais les bourgeons de la pluie d'or ont déjà un épanouissement moins rapide. Les expériences entreprises sur des plantes différentes, à diverses époques de l'hiver, donnent à cet égard des résultats intéressants. Il suffit de plonger dans l'eau l'extrémité inférieure des branches et des rameaux les plus grands possible, et de veiller à ce que l'air qui entoure les plantes ne soit pas trop sec; c'est pourquoi il est préférable d'ordinaire d'effectuer ces recherches dans une serre que dans une chambre.

Lorsqu'on porte en automne des tubercules de pommes de terre dans une chambre chauffée et qu'on les abandonne à eux-mêmes dans une caisse, on observe que leur croissance ne commence que vers le nouvel an. Les tubercules ont donc, comme les bourgeons, une période de repos. Müller-Thurgau (1) s'est efforcé d'établir les causes de cette période de repos, et je me suis, moi-même, occupé de cette question (2). Si on examine la teneur en sucre de tubercules de pommes de terre qui se trouvent déjà depuis quelque temps dans la chambre, on ne trouve pas de glucose ou seulement des traces. On effectue cette recherche en râpant un tubercule et en ajoutant à la masse broyée une légère quantité d'eau, pour la traiter ensuite par la liqueur de Fehling après

(1) Voy. Müller-Thurgau, *Landwirthschaftl. Jahrbücher*, vol. 11, p. 813.
(2) Voy. Detmer, *Pflanzenphysiologishe Untersuchungen über Fermentbildung etc.*, Iéna, 1884, p. 41.

un certain temps. De même, au début de la germination des tubercules, en janvier, la teneur en sucre est encore très minime, mais elle augmente alors peu à peu d'une façon considérable. En décembre, si on mélange avec un empois d'amidon légèrement étendu une petite quantité (20 c. c.) du liquide que l'on retire, des tubercules de pommes de terre, de la façon qui vient d'être indiquée, on ne peut constater d'une façon certaine la présence de diastase (pour la méthode, voy. § 112). Mais les tubercules de pommes de terre dont la germination est fort avancée contiennent certainement de la diastase, comme j'ai pu m'en assurer.

Il résulte de là que les tubercules de pommes de terre ne germent pas immédiatement en automne, parce qu'ils ne sont pas en état de former de la diastase pour produire suffisamment de sucre. Les quantités de sucre produites en automne dans les tubercules, suffisent évidemment pour entretenir la respiration des tubercules, mais elles ne se déposent pas sensiblement dans les tissus et ne sont pas en quantités suffisantes pour provoquer une croissance active des organes des bourgeons. Cependant la quantité de diastase formée dans les tubercules va peu à peu en augmentant; il se produit alors de plus grandes quantités de sucre, et la germination peut commencer à s'effectuer. Il est très vraisemblable que les résultats auxquels on a été conduit par l'étude de la période de repos des tubercules de pommes de terre, sont aussi d'une certaine importance pour cette question de la période de repos des bourgeons d'hiver de nos plantes ligneuses et herbacées. Il sera donc digne d'intérêt de mentionner l'expérience de Müller-Thurgau qui va suivre.

Au mois d'août, immédiatement après les avoir déterrés, nous portons quelques tubercules de pommes de terre, dans un thermostat où règne une température de 0° C. (voy. § 126). Après quatre semaines environ, les tubercules, dans des pots à fleurs, sont exposés en l'absence de lumière dans une terre meuble de jardin humide à des conditions favorables pour la germination. Les bourgeons que l'on conserve ne tardent pas à se développer; des expériences de contrôle nous montrent cependant que les tubercules qui n'ont pas été soumis au froid ne germent pas en automne, mais seulement plus tard. La période de repos aura donc été écourtée par le refroidissement. Dans le § 126, on a montré que les tubercules accumulent dans leurs tissus des quantités considérables de sucre sous une basse température, car la respiration des cellules est alors très faible. Après leur refroidissement, les bourgeons auront donc une quantité assez grande de matières plastiques à leur disposition, et pourront ainsi se développer rapidement. Les résultats de quelques observations que j'ai entreprises sur des rameaux de *Pavia* présentent aussi de l'intérêt au sujet de ce qui précède. Nous avons déjà dit que des rameaux de *Pavia*, coupés au milieu de janvier et plongés par leur base dans l'eau, n'épanouissent

leurs bourgeons dans une serre qu'à la mi-mars. En coupant des rameaux de *Pavia* à la fin d'octobre et en les déposant dans une serre, le développement des bourgeons ne s'effectue qu'après la mi-mars. L'épanouissement relativement rapide des bourgeons sur les rameaux placés en serre en janvier seulement, provient peut-être de ce qu'ils ont pu accumuler du sucre dans leurs tissus pendant leur séjour à l'extérieur, à cause de la basse température à laquelle ils étaient soumis. Les rameaux déposés déjà en octobre dans une serre ont formé aussi du sucre, mais celui-ci a été utilisé par la respiration aussi longtemps que la production de glucose n'a pas été très abondante, de sorte que les bourgeons n'ont pu s'épanouir qu'au mois de mars. Des recherches approfondies montreront si les hypothèses qui viennent d'être émises sont exactes.

162. La croissance des organes végétaux dans une obscurité constante.

Dans une obscurité constante, il n'y a que les organes végétaux ayant à leur disposition des quantités suffisantes de matières plastiques qui soient susceptibles d'une forte croissance. C'est pourquoi les germinations conviennent bien pour les expériences qui vont suivre, car dans les dépôts de matières de réserve des graines se rencontrent des quantités plus ou moins grandes de matières plastiques. Pour comparer, d'abord d'une façon toute générale, les phénomènes que présente la croissance des plantes dans une obscurité constante avec ceux que montre leur croissance sous un éclairage normal, nous déposons quelques graines gonflées de *Pisum*, de *Phaseolus* et de *Cucurbita* dans de grands pots à fleurs remplis de terre de jardin mouillée. Quelques graines seront soumises sur une fenêtre à l'alternance du jour et de la nuit; d'autres seront placées directement derrière les précédentes au-dessous d'une grande boîte de carton recouverte de papier noir. Il convient d'effectuer les expériences dans une pièce où les plantes ne rencontrent que de la lumière diffuse; car, sous l'influence de la lumière solaire directe, l'air atteindrait aisément une température très élevée sous la boîte de carton. Nous remarquerons bientôt que les matériaux d'étude présentent un aspect très différent suivant qu'ils se sont développés dans l'obscurité ou normalement. En faisant obstraction de l'absence complète de couleur verte chez les plantes cultivées dans l'obscurité, nous trouverons en outre chez le *Cucurbita*, par exemple, que l'axe hypocotylé a atteint une longueur très considérable dans l'obscurité, alors qu'il reste relativement court à la lumière. Au contraire, les cotylédons des plantes plongées dans l'obscurité ne sont ni aussi larges ni aussi longs que ceux des matériaux d'étude exposés à la lumière. On pourra mieux s'assurer encore de ce fait en effectuant des mesures exactes (il conviendra toujours d'examiner plusieurs plantes à la fois, afin d'obtenir une moyenne). La fig. 100 représente la partie

aérienne d'une germination étiolée de *Cucurbita*; la fig. 101, d'une germination normale. Il est facile de s'assurer, en cultivant simultanément des germinations de *Phaseolus* à la lumière et dans l'obscurité (voy. fig. 102 et 103), que l'axe hypocotylé de ces plantes reste aussi très court dans l'obscurité, tandis que l'axe épicotylé, notamment, y acquiert une longueur beaucoup plus considérable qu'à la lumière. Les pétioles des premières feuilles sont plus longs dans l'obscurité que dans les conditions naturelles; les limbes, au contraire, n'atteignent leur forme et leur grandeur normales que sous l'influence de la lumière. Les germinations de *Pisum* et de *Vicia* se comportent de la même façon que celles de *Phaseolus*. En effectuant des recherches sur diverses monocotylédonées (*Zea, Triticum*) et en comparant les feuilles de plantules développées dans une obscurité constante avec des feuilles de même âge dont le développement s'est effectué à la lumière, nous observons que les premières atteignent une longueur plus considérable, mais une largeur moindre que les autres (1).



Fig. 100. — Portion aérienne d'une germination de *Cucurbita* croissant dans l'obscurité.



Fig. 101. — Portion aérienne d'une germination de *Cucurbita* dans des conditions normales.

(1) Voy. Sachs, *Botan. Zeitung*, 1863, supplément.

Il est intéressant de constater que ce ne sont pas seulement les plantes qui ont été cultivées, d'une part, sous un éclairage ordinaire, et de l'autre, dans une profonde obscurité, qui présentent des différences importantes dans leur développement général, mais que des différences du même genre s'observent déjà nettement lorsqu'on cultive des plantes dans une lumière plus ou moins intense (1). Pour démontrer ce fait j'ai employé des caisses en bois possédant une hauteur de 55 cm. et dont la base mesurait 680 cm. carrés environ, dans lesquelles se trouvaient les vases de culture avec les plantes. Les caisses étaient noircies à l'intérieur. Des lames de verre pouvaient remplacer leur paroi antérieure. Une des caisses était pourvue d'une

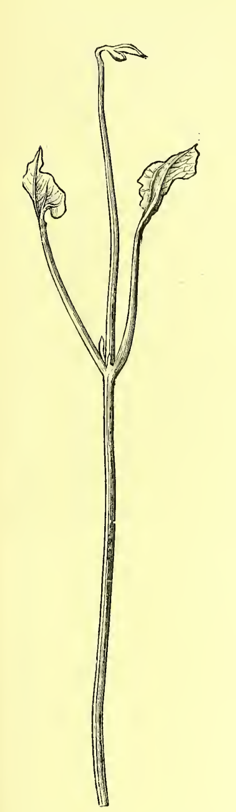


Fig. 102. — Portion aérienne d'une germination de *Phaseolus* croissant dans l'obscurité.

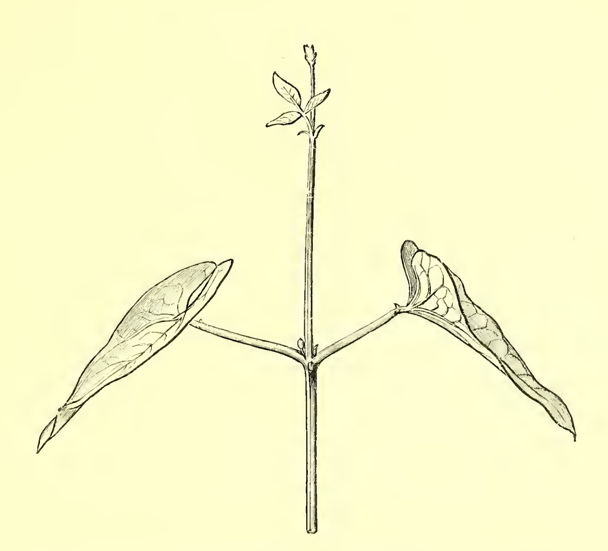


Fig. 103. — Portion aérienne d'une germination de *Phaseolus* dans des conditions normales.

lame de verre ordinaire; une autre, d'une plaque de verre dépolie; un troisième, de deux plaques dépolies; une quatrième, de trois. Afin d'avoir des points de comparaison, je faisais germer aussi des graines en l'absence complète de lumière. Les caisses étaient placées devant la fenêtre d'une chambre tournée au nord. En cultivant des haricots, on ne tardera pas à remarquer que les plantes qui reçoivent le plus de lumière produisent les plus courtes tiges et les plus grandes feuilles. Lorsque l'intensité lumineuse va en diminuant, derrière les lames dépo-

(1) Voy. Detmer, *Versuchsstationen*, vol. 16.

lies, la longueur des organes caulinaires va en augmentant, et la grandeur des feuilles en décroissant.

Il existe des plantes qui sont en état, non seulement de développer dans une obscurité permanente de nombreuses feuilles et de longues tiges, mais encore des fleurs. Si on fait pousser des bulbes de jacinthes, dans des vases dits à jacinthes, en l'absence constante et complète de lumière, les matériaux d'étude, en effet, parviennent à fleurir. J'ai pu m'assurer que les fleurs, pour ce qui concerne leur forme et leur couleur, se développaient d'une façon tout à fait normale.

Il sera intéressant aussi de faire l'expérience qui va être indiquée. Nous cultivons en pots des plantes de *Phaseolus multiflorus*. Lorsque les premières feuilles se seront déployées dans des conditions normales, et que les entre-nœuds qui suivent l'épicotyle s'allongeront activement, nous soustrairons le sommet d'une plante à l'action de la lumière, alors que l'autre portion de la plante restera exposée à la vive lumière du jour. Nous nous servirons pour cela d'un support portant un grand anneau métallique sur lequel repose horizontalement un disque de carton épais, troué en son milieu. Le sommet de la plante sera passé dans ce trou et fixé au moyen d'ouate. Nous le placerons alors sous un cylindre de carton, aussi haut que possible, recouvert de papier noir et reposant sur le disque de carton. Après 2 à 3 jours, nous constaterons que les entre-nœuds récemment formés sont d'une longueur démesurée, alors que les feuilles sont restées très petites. Des recherches précises de Sachs (1), dans lesquelles aussi une partie des plantes était exposée à la lumière, tandis qu'une autre restait dans l'obscurité, nous prouvent que les feuilles et les entre-nœuds développés dans l'obscurité prennent une forme relativement normale lorsqu'une partie considérable de la plante (surtout un grand nombre de feuilles) n'est pas soustraite à l'action de la lumière. Il importe notamment de remarquer que les feuilles développées dans l'obscurité deviennent alors relativement grandes.

163. Les causes de l'étiolement.

On sait qu'un grand nombre d'espèces végétales forment des tiges très allongées et des petites feuilles, lorsque leur développement s'effectue dans une obscurité complète. Il y aura donc lieu de se demander si la forme particulière des végétaux étiolés n'est pas occasionnée par un arrêt de l'assimilation dans les feuilles tenues dans l'obscurité. Pour répondre à cette question, nous effectuerons sur des germinations de *Raphanus sativus* les expériences que nous allons indiquer (2).

Nous faisons gonfler des graines de *Raphanus* dans l'eau, puis nous

(1) Voy. Sachs, *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie*, 1882, p. 647.
(2) Voy. Godlewski, *Botan. Zeitung*, 1879.

les déposons dans deux petits pots à fleurs remplis de sable à gros grains arrosé d'une solution étendue de matières nutritives, et nous portons ensuite les pots dans l'appareil décrit dans le § 16 et représenté par la fig. 15. Un des pots sera soumis à la vive lumière diffuse du jour; l'autre sera placé, dans le voisinage immédiat du premier, sous une boîte de carton recouverte de papier noir. Les graines ne tarderont pas à germer, et, tandis que les plantules qui se sont développées dans l'obscurité possèdent un axe hypocotylé allongé et des feuilles de peu de longueur et de largeur, celles qui ont crû à la lumière et qui ont verdi sont d'un aspect tout à fait normal. Les dernières, malgré leur chlorophylle, ne pouvaient cependant point assimiler, car elles étaient enveloppées d'une atmosphère dépourvue d'anhydride carbonique. On peut en conclure que le défaut d'assimilation ne peut être considéré comme la cause de la forme particulière des plantes étiolées.

Il importe, pour ceux qui veulent plus spécialement étudier les causes des phénomènes d'étiolement, d'effectuer les expériences qui vont suivre. On choisit quelques graines de *Raphanus* ayant autant que possible les mêmes dimensions. On pèse chaque graine séparément, et on n'emploie que celles qui ont à peu près le même poids. Après leur gonflement, ces graines sont déposées dans de petits pots à fleurs remplis de sable qui a été arrosé d'une solution nutritive. Chaque pot recevra quatre ou six semences. Les unes seront cultivées à la lumière, de la façon indiquée, dans une atmosphère dépourvue d'anhydride carbonique; les autres, dans l'obscurité. Après quelques jours, lorsque les germinations seront suffisamment avancées, on les retirera soigneusement du sable et on enlèvera les divers organes, en ayant soin d'écarter les plantules qui ne se sont point développées d'une façon tout à fait normale. Il suffira d'examiner soigneusement l'axe hypocotylé et les cotylédons. Ces organes seront pesés à l'état frais, puis, après avoir été desséchés à 100° C. dans de petits vases. En travaillant avec soin, on parvient aux résultats qui vont être indiqués. Dans les axes hypocotylés de plantes développées à la lumière, le poids sec absolu est moindre que chez les matériaux d'étude qui ont crû dans l'obscurité. Les premières contiennent moins % d'eau que les dernières. Les cotylédons qui se sont développés à la lumière sont au contraire plus riches en matière sèche que ceux qui ont crû dans l'obscurité. Ces derniers renferment aussi moins d'eau que les premiers (1).

Il s'agira maintenant de rechercher la cause pour laquelle les entre-nœuds étiolés sont ordinairement plus longs que les normaux, et pourquoi les feuilles, en l'absence de lumière, ont presque toujours une croissance moindre. Pour ce qui concerne l'allongement considérable des entre-nœuds étiolés, il est à remarquer que les membranes de leurs élé-

(1) J'ai déjà montré antérieurement (*Versuchsstationen*, vol. 16, p. 212), que les plantes étiolées contenaient plus d'eau que celles qui avaient effectué leur croissance à la lumière.

ments histologiques (épiderme, collenchyme, liber, bois) restent à un degré de développement peu avancé et n'atteignent jamais leur épaisseur normale. On pourra constater ce fait, en comparant, par exemple, comme j'ai eu l'occasion de le faire, le développement des membranes des éléments ligneux, chez des axes épicotylés de *Phaseolus* qui ont crû sous l'action de la lumière et chez ceux qui se sont étiolés. Le tissu des entre-nœuds étiolés doit donc être plus extensible que celui des normaux, et chaque cellule d'un organe caulinaire étiolé, considérée isolément, doit par conséquent aussi pouvoir croître plus activement que les cellules correspondantes des entre-nœuds formés sous l'action alternative du jour et de la nuit, parce que leurs membranes n'opposeront qu'une résistance relativement minime à la turgescence. Remarquons encore ici, par rapport à ce qui précède, que l'intensité de la tension des tissus (tension longitudinale), comme Kraus l'a démontré le premier, est beaucoup moindre dans les entre-nœuds étiolés que dans les normaux. On peut s'assurer de ce fait en effectuant, d'après la méthode donnée dans le § 147, des recherches comparatives sur la tension des tissus dans les axes épicotylés de *Phaseolus* développés normalement et d'axes étiolés. Ces essais seront effectués sur des plantules de même âge, dont la croissance se poursuit activement.

La croissance des entre-nœuds étiolés semble encore activée par l'existence dans leurs cellules d'une turgescence supérieure à celle des cellules des organes normaux. Quelques observations de Wiesner et de H. de Vries (1), constatent une teneur relativement élevée en acides organiques dans les organes végétaux étiolés, et comme ces corps sont d'une grande importance pour la turgescence, il serait intéressant d'examiner ce fait de plus près. Les axes épicotylés de *Vicia sativa* ou de *Phaseolus* fourniraient, par exemple, les matériaux d'étude nécessaires. Il n'y aurait qu'à comparer la teneur en acides des organes développés à la lumière et à l'obscurité (pour la méthode, voy. le § 130).

La croissance active des organes caulinaires étiolés provient par conséquent d'une dilatation considérable de leurs cellules due à la turgescence. Cette dilatation est provoquée à son tour par une augmentation de la turgescence du contenu des cellules et par une résistance relativement moindre des membranes cellulaires. D'après ce que nous avons vu précédemment, on peut admettre que les cellules des tiges étiolées ont une longueur plus considérable que les cellules correspondantes des entre-nœuds normaux. C'est, en effet, ce qui a lieu. J'ai déterminé, par exemple, à l'aide d'un objectif à micromètre la longueur des cellules médullaires de la partie moyenne d'axes épicotylés de *Phaseolus* normaux et d'axes étiolés. Les premières avaient une longueur de 0, 2 mm. environ (il sera toujours nécessaire de mesurer un grand nombre de

(1) Voy. H. de Vries, *Botan. Zeitung*, 1879, p. 852.

cellules, afin d'arriver à des moyennes comparables); les dernières étaient deux ou trois fois plus longues (1).

Pour ce qui concerne les causes pour lesquelles les feuilles de la plupart des dicotylées restent si petites dans l'obscurité, il suffira d'attirer l'attention sur les considérations qui vont suivre. Dans l'obscurité, les cellules foliaires ne peuvent présenter les phénomènes qui permettent une forte croissance superficielle des membranes cellulaires. On ne connaît pas exactement sous ce rapport les phénomènes qui interviennent. Il est seulement prouvé que ces phénomènes, — et aussi, par conséquent, la croissance superficielle des cellules foliaires — ne peuvent se produire que lorsque les plantes sont rencontrées par des rayons lumineux, fût-ce même accidentellement. C'est ce que montre nettement une expérience de Batalin, facile à répéter. Nous cultivons des germinations de *Phaseolus* dans des pots à fleurs en l'absence de lumière. Lorsque les feuilles primordiales se seront développées jusqu'à un certain point, nous examinerons deux plantes (*a* et *b*) pourvues de feuilles ayant des longueurs aussi semblables que possible, et nous mesurerons la longueur ainsi que la largeur des feuilles. La plante *a* continuera à rester dans l'obscurité. La plante *b* séjournera aussi dans l'obscurité, mais pendant huit jours nous l'exposerons pendant deux heures environ par jour à l'action d'une faible lumière diffuse. Les feuilles de *b* ne doivent pas verdir, c'est pourquoi elles ne seront éclairées que si peu de temps chaque jour. Les feuilles de *a* resteront petites; celles de *b*, au contraire, croîtront considérablement (2).

164. Influence de la lumière sur la croissance.

La lumière, comme on le sait, exerce une action retardatrice sur la croissance des organes végétaux les plus divers. Les observations que nous allons effectuer nous permettront de démontrer ce fait. Un grand nombre de graines de pois bien conformées seront mises pour germer, après être gonflées, dans une caisse remplie de sciure humide. Lorsque les racines principales des germinations auront atteint une longueur de 2 cm., nous retirerons les matériaux d'étude de la sciure, et nous les marquerons d'un trait d'encre de Chine, de la façon connue, à 10 mm. du sommet de la racine. Il faut avoir soin de remarquer que l'on ne peut employer pour ces recherches que des germinations ayant la même conformation et se trouvant dans des conditions tout à fait normales. La culture des plantules s'effectuera ensuite dans des vases cylindriques en verre, de 25 cm. environ de hauteur et 10 cm. de diamètre,

(1) Voy. G. Kraus, in *Jahrbücher f. wissenschaftl. Botanik* de Pringsheim, vol. 8. A côté de l'allongement des cellules, la division des cellules joue aussi un rôle dans l'étiolement.

(2) Des indications bibliographiques sur l'étiolement sont recueillies dans Detmer, *Vergleichende Physiologie des Keimungsprocesses der Samen*, 1880.

remplis d'eau ordinaire, et pouvant être fermés à l'aide d'un couvercle convenable de bois, muni de nombreux orifices. Nous préparerons deux vases cylindriques semblables qui seront pourvus chacun d'un nombre assez grand de germinations (10 à 15 environ), fixées au moyen d'un peu d'ouate dans les ouvertures du couvercle de bois, de manière que les racines plongent dans l'eau. Dans un des vases de culture, les racines demeurent soustraites à l'action de la lumière; il convient de placer un miroir immédiatement derrière le vase et parallèlement à la fenêtre, ou de faire tourner lentement le vase sur un clinostat, afin d'éviter toute courbure héliotropique des racines. Sur l'autre vase, nous collons du papier noir, de sorte que la lumière ne puisse parvenir aux racines. Des observations seront effectuées en été dans une chambre tournée vers le nord et sous une température aussi élevée que possible. De temps en temps, toutes les 24 heures, par exemple, nous mesurerons l'accroissement total de toutes les racines dans les deux vases, ce qui nous permettra de constater que cet accroissement est moindre à la lumière qu'à l'obscurité.

Si les plantes, placées dans des conditions aussi constantes que possible de température et d'humidité, sont soumises à l'alternance du jour et de la nuit, en examinant l'intensité de l'accroissement de leurs organes, nous observerons en général une gradation du soir vers le matin et une diminution du matin vers le soir. Cette périodicité quotidienne de la croissance est produite par les changements d'éclairage dans le cours de 24 heures. Pendant la journée, la lumière exerce une action retardatrice sur la croissance; l'obscurité de la nuit favorise l'accroissement. Sachs (1) a établi, à l'aide de l'auxanomètre, l'existence d'une périodicité diurne dans la croissance des entre-nœuds de diverses plantes. Prantl (2) l'a aussi constatée pour les feuilles. Ces expériences sont liées à un grand nombre de difficultés. Le procédé le plus simple consiste à constater sur les feuilles le fait de la périodicité de la croissance. On procède de la façon indiquée dans le § 152, p. 293. Les matériaux d'étude (des *Cucurbita* ou des *Nicotiana*) sont soumis sous des cloches en verre, dans une chambre tournée vers le nord, à l'alternance du jour et de la nuit à une température très élevée et aussi constante que possible. De temps en temps (toutes les 3 ou 4 heures, par exemple), on mesure l'écartement des traits à la base et au sommet du limbe au moyen d'une règle graduée en millimètres. On voit ainsi, notamment, que le mouvement d'accroissement pendant la nuit est plus grand que pendant le jour. Le soir, lorsque l'obscurité survient, la croissance n'est pas immédiatement accélérée, mais elle augmente graduellement; de sorte que le maximum de l'accroissement journalier a lieu aux premières heures du jour suivant. De même,

(1) Voy. Sachs, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, V. I, p. 99.
(2) Voy. Prantl, *Ibidem*, p. 371.

l'arrivée de la lumière ne fait pas tomber à son minimum la vitesse de la croissance; ce minimum ne s'observe, au contraire, que pendant les heures de l'après-midi.

165. Influence de l'éclairage sur la germination des tubercules de pomme de terre.

En automne ou pendant l'hiver, nous plaçons quelques tubercules de pomme de terre dans une caisse, que nous fermons à l'aide d'un disque de carton pour les soustraire à l'action de la lumière. Nous portons en même temps d'autres tubercules dans une caisse recouverte d'une lame de verre. Les deux caisses sont mises vis-à-vis de la fenêtre d'une chambre chauffée, tournée vers le nord. Ces tubercules ne recevront absolument pas d'eau, ou seront déposés dans les caisses sur du sable humide. Pendant le cours de l'hiver, les pommes de terre germent; les tubercules plongés dans l'obscurité développent des jets assez longs; les jets formés à la lumière restent courts et présentent un aspect ramassé. Nous pourrions prolonger l'expérience jusqu'en été; nous constaterons toujours que la croissance des premiers entre-nœuds des jets formés par le tubercule ne peut s'effectuer d'une façon normale que dans l'obscurité (dans les conditions naturelles). Nous râpons deux tubercules, l'un de la série éclairée, l'autre de la série non éclairée. Si, après avoir ajouté de l'eau à la masse broyée, nous traitons par la liqueur de Fehling la solution obtenue par filtration, nous trouverons beaucoup de sucre dans les tubercules maintenus dans l'obscurité, et nous n'en rencontrerons pas dans ceux qui sont restés éclairés. Ce manque de matières plastiques convenables dans les tubercules éclairés est évidemment en rapport avec la faible croissance de leurs jets. J'ai constaté, le premier, que les tubercules de pommes de terre germant à la lumière ne contenaient pas de sucre, mais de nouvelles recherches devraient être effectuées sur les causes de ce manque de glucose (1).

Il est encore digne d'intérêt de remarquer que les tubercules de pomme de terre exposés à l'influence de la lumière verdissent graduellement. En examinant au microscope de fines sections transversales d'un tubercule qui a verdi, on trouve, immédiatement au-dessous de l'enveloppe, des cellules qui contiennent des corps chlorophylliens avec des enclaves d'amidon. Sous l'influence de la lumière, ces corps chlorophylliens apparaissent dans les amylogènes incolores que renferment les tubercules.

(1) Voy. DETMER, *Pflanzenphysiologische Untersuchungen über Fermentbildung und fermentative Processe*, Iéna, 1884, p. 34. Dans mes expériences, les pommes de terre ne rece vaient absolument pas d'eau. Celle qui était nécessaire pour la croissance du jet était soutirée par les cellules de cet organe aux tissus du tubercule.

CINQUIÈME DIVISION.

LES MOUVEMENTS PROVOQUÉS PAR LA SENSIBILITÉ DES PLANTES.

I. LES MOUVEMENTS PROVOQUÉS DES PRODUCTIONS PROTOPLASMIQUES.

166. Les mouvements du protoplasme.

Comme matériaux d'étude, nous prenons des *Nitella*, algues qui se rencontrent assez fréquemment dans les eaux stagnantes pauvres en calcaire. Pour l'examen microscopique, il est bon d'employer les plus jeunes entre-nœuds. Sans nous étendre sur les particularités bien connues des cellules longuement étirées de *Nitella*, nous nous bornerons à faire remarquer que leur couche membraneuse ou hyaloplasme a une épaisseur considérable. Cette couche membraneuse est immobile; il en est de même, par conséquent aussi, des grains de chlorophylle qui y sont inclus; la couche granuleuse du protoplasme est animée, au contraire, d'un mouvement très rapide. Nous avons ici un exemple typique de la rotation, car nous observons un courant pouvant rétrograder. Des bandes immobiles séparent la partie ascendante du courant de sa partie descendante.

Des feuilles du bourgeon d'*Elodea canadensis* sont déposées dans une goutte d'eau sur un porte-objet et examinées au microscope. Dans les cellules, il est facile de distinguer la portion pariétale du protoplasme, les bandelettes de protoplasme tendues dans le suc cellulaire, le noyau et les corps chlorophylliens. Nous remarquons immédiatement aussi dans le protoplasme des mouvements faciles à observer à cause du déplacement des corps chlorophylliens. Le mouvement du protoplasme dans les cellules foliaires d'*Elodea* a tantôt plus spécialement le caractère d'une rotation, tantôt celui d'une circulation.

Dans ce dernier cas, les courants possèdent les directions les plus diverses, tant dans la couche pariétale que dans les bandelettes protoplasmiques; souvent même, les courants d'une même bandelette ont des directions différentes. Le corps protoplasmique subit, de plus, des changements de formes; quelques bandelettes peuvent s'amincir;

d'autres, disparaître complètement; de nouvelles, se former, etc., etc. Les poils staminaux de *Tradescantia* (de *T. Virginica*, par exemple) fournissent aussi de bons matériaux pour l'étude de la circulation du protoplasme. Les filets, enlevés à des fleurs épanouies, sont examinés dans une goutte d'eau sous une lamelle. Les poils des parties jeunes des *Cucurbita* peuvent aussi être employés.

Les causes qui provoquent les mouvements protoplasmiques sont encore peu connues. Dans tous les cas, les mouvements protoplasmiques sont accompagnés d'une série de phénomènes différents, et parfois de phénomènes physiques et chimiques variables. Berthold (1) a tenté d'expliquer les diverses formes de mouvement des masses plasmiques, en les ramenant aux phénomènes de mouvement que présentent, dans certaines circonstances, les particules des corps inertes. Cet essai ne me semble avoir aucun intérêt spécial pour la physiologie, car Berthold s'est trop peu arrêté aux données concrètes.

Abstraction faite d'un grand nombre d'autres forces, qui seront sans doute prises en considération pour l'édification d'une future théorie des mouvements protoplasmiques, il est instructif de s'assurer que les corps inertes sont souvent susceptibles de mouvements qui présentent une certaine ressemblance extérieure avec ceux du protoplasme.

Sur une lame de verre, reposant sur une feuille de papier blanc, nous portons à l'aide d'une baguette de verre quelques gouttes d'une solution alcoolique, pas trop concentrée, de fuchsine ou de violet de méthylaniline. Les gouttes ne sont pas régulièrement étalées à leur périphérie sur la lame de verre, mais elles présentent, çà et là, des sinuosités qui nous font involontairement songer aux mouvements amiboïdes du protoplasme. Nous versons de l'eau distillée dans un cristallisoir et nous projetons de petits fragments de camphre dans le liquide. Les particules de camphre vont être animées d'un vif mouvement de rotation, à mesure qu'elles se dissoudront peu à peu dans l'eau; j'ai vu ce mouvement s'effectuer pendant des heures entières.

La température exerce une action importante sur la vitesse du mouvement protoplasmique. Sous une basse température, le protoplasme se meut lentement. Si la température s'élève, la vitesse du mouvement va en augmentant, passe par un optimum de 36° C., d'après Velten (2), pour le mouvement du protoplasme dans les cellules foliaires d'*Elodea*, par exemple, pour décroître ensuite. Il est intéressant de s'assurer expérimentalement que le plasma devient rigide à une température peu éloignée de celle à laquelle les cellules sont tuées.

Nous chauffons de l'eau au bain-marie dans une capsule en porcelaine, et nous plongeons un thermomètre dans le liquide. Nous examinons ensuite quelques lambeaux d'épiderme des parties les plus jeunes

(1) Voy. Berthold, *Studien über Protoplasmamechanik*, Leipzick, 1886.
(2) Voy. Velten, *Flora*, 1876.

d'un *Cucurbita Pepo*, d'un jeune pétiole, par exemple; ce qui nous permettra de constater l'existence d'une circulation dans le plasma des cellules des poils; nous observons attentivement quelques-uns de ces poils, et nous plongeons alors le lambeau d'épiderme dans l'eau chaude, à l'aide d'une fine pince, au voisinage immédiat de la boule du thermomètre. Si le lambeau séjourne pendant deux minutes dans l'eau à une température de 46 à 47° C., ou une minute dans l'eau à 47 à 48° C., l'examen microscopique nous montre que le mouvement du protoplasme est arrêté dans les cellules des poils. Le protoplasme est mis en état de rigidité par la chaleur. Après 1 à 2 heures, le mouvement du protoplasme recommence.

167. La locomotion des organismes inférieurs (mouvements des zoospores, etc).

Un grand nombre de végétaux inférieurs peuvent se mouvoir librement, absolument de la même façon que les organismes animaux. Le mécanisme de ces mouvements étant encore obscur, nous nous dispenserons d'en parler. Mais il y aura lieu de constater les phénomènes de mouvement eux-mêmes et de chercher l'action exercée sur eux par les conditions extérieures du milieu.

Nous soumettons d'abord l'*Euglena viridis* à l'expérimentation. Au point de vue morphologique, cet organisme ressemble moins, il est vrai, au type algue qu'au type infusoire, et, physiologiquement, il se sépare des algues à divers égards. Les matériaux d'étude sont faciles à se procurer; on les rencontre dans les eaux stagnantes, les rigoles des rues et les mares des villages. Afin d'obtenir pour mes recherches des *Euglena* bien vivants, je les cultivais d'abord sur des morceaux de tourbe placés dans un vase contenant une solution nutritive, analogue à celle que l'on emploie pour les expériences de culture dans l'eau. Les morceaux de tourbe étaient presqu'à demi plongés dans la solution, et les euglènes étaient simplement déposées à leur surface. Lorsque les vases de culture avaient séjourné pendant quelques jours devant une fenêtre tournée vers le sud, les morceaux de tourbe étaient placés dans une capsule en porcelaine, recouverts d'eau ordinaire et laissés pendant quelques heures dans ce liquide. Pendant ce temps, de nombreuses zoospores d'*Euglena* se rassemblaient dans l'eau. L'examen au microscope nous montre que le corps des euglènes est fusiforme. Il présente un noyau et des corps chlorophylliens. A la partie antérieure de leur corps, munie d'un long cil, s'aperçoivent des vacuoles et une tache oculaire rouge. D'après Klebs, l'organisme des euglènes serait entouré d'une membrane pendant tout le cours de son existence, et, lorsque les conditions extérieures deviennent défavorables, les euglènes passeraient par une phase d'immobilité. La locomotion des zoospores d'euglènes est produite

par le cil et elle est toujours accompagnée de la rotation du corps tout entier. Pour pouvoir suivre ces mouvements avec soin, nous porterons les zoospores dans la goutte d'eau d'une petite chambre humide, à l'aide d'un tube en verre que nous plongerons dans l'eau contenant les euglènes et qui a reçu les morceaux de tourbe, puis nous examinerons au microscope (voy. le § 137 pour la confection de la chambre humide). Les zoospores jouissent de la propriété de se mouvoir dans une obscurité complète comme à la lumière. Cette dernière exerce une action directrice sur le déplacement des euglènes. Celles-ci appartiennent donc à la catégorie des organismes phototactiques. Au début de notre expérience, les zoospores sont assez régulièrement distribuées dans la goutte d'eau de la chambre humide, mais il est facile de voir à l'aide du microscope, surtout lorsque la lumière de la fenêtre est réfléchie par un miroir, que la plupart des zoospores se réunissent très rapidement sur le bord de la goutte dirigée vers la fenêtre, par conséquent vers la source de lumière. Si on tourne de 180° le porte-objet avec sa chambre humide, les zoospores se meuvent de nouveau activement et cherchent encore à atteindre le bord de la goutte dirigée vers la source de lumière. Ces phénomènes ne s'observent cependant que lorsque la lumière qui agit sur les zoospores n'est pas trop intense. Lorsque l'intensité lumineuse est trop forte, la plupart des zoospores ne se rassemblent plus sur le bord le plus éclairé, mais au contraire sur le bord opposé. Elles fuieront donc alors la lumière.

Si nous versons de l'eau contenant beaucoup d'euglènes dans une assiette plate, et si nous l'approchons de la fenêtre, les zoospores se réunissent sur le bord de l'assiette faisant face à la fenêtre. En tournant l'assiette de 180°, la plupart des zoospores se grouperont de nouveau sur le bord dirigé maintenant vers la fenêtre. Dans des expériences de ce genre sur les euglènes, j'ai eu fréquemment l'occasion d'observer un mouvement si actif des zoospores vers la source lumineuse, que l'on pouvait montrer plusieurs fois dans le cours d'une heure avec les mêmes matériaux d'étude l'influence directrice des radiations lumineuses sur ces organismes.

Dans certaines circonstances, surtout quand la locomotion des zoospores est empêchée (lorsque les zoospores, dans notre chambre humide, sont rassemblées sur le bord éclairé de la goutte), les zoospores d'euglènes peuvent modifier leur forme d'une façon remarquable (métabolisme). Chez l'*Euglena viridis*, les zoospores s'enflent de préférence en leur milieu, et s'amincissent à leurs extrémités; chez d'autres espèces d'euglènes, les zoospores s'incurvent en croissant.

Des matériaux d'étude convenables pour les observations sur les mouvements des zoospores nous seront fournis également par l'*Haematococcus lacustris*, algue que l'on rencontre, par exemple, à Iéna, dans la Leutra et qui donne une belle coloration rouge aux pierres qu'elle recouvre. Nous porterons quelques pierres couvertes d'*Haematococcus*

dans un grand vase plat dont le fond est à peine mouillé d'eau ; puis, après avoir déposé une lame de verre sur le vase, nous les laisserons en repos pendant plusieurs jours. Au bout de ce temps, nous verserons de l'eau sur quelques pierres qne nous placerons dans un autre vase. Nous les laisserons dans l'eau jusqu'au lendemain, ce qui nous permettra ordinairement de constater que l'eau contient alors un grand nombre de zoospores rouges d'*Haematococcus*. Ces zoospores, comme celles des euglènes, sont phototactiques. Dans une lumière trop intense et sous des conditions favorables de température (20° C. environ), elles vont se mouvoir dans le sens inverse à celui des radiations lumineuses. J'ai pu m'assurer qu'il importe, pour obtenir un très grand nombre de zoopores d'*Haematococcus*, de faire séjourner les pierres, de la façon indiquée, dans une atmosphère saturée de vapeur avant leur complète immersion dans l'eau (1).

Les zoospores de certaines algues sont nettement aérotropiques. Ce phénomène a été constaté par Aderhold chez les zoospores d'*Euglena*. L'expérience que nous allons indiquer nous permettra d'étudier ce phénomène. Nous versons une eau riche en zoospores d'euglènes dans un petit vase. Nous remplissons aussi un tube à réactions, jusqu'au bord, de la même eau; nous en fermons l'ouverture avec le pouce et nous plaçons ensuite le tube de telle sorte que son extrémité ouverte soit plongée dans l'eau du vase. A l'abri de la lumière, après un grand laps de temps, presque toutes les zoospores auront abandonné l'eau du tube à réactions pour se rassembler dans l'eau du vase. Ce phénomène n'est pas dû uniquement au géotropisme positif des zoospores ou à d'autres causes de ce genre, mais surtout à leur aérotropisme ; les zoospores cherchent à parvenir aux endroits où elles pourront avoir le plus d'oxygène à leur disposition. Cela résulte très nettement des observations que nous allons effectuer. Lorsque les zoospores auront abandonné le tube à réactions, nous déplacerons par de l'air une petite quantité de l'eau qu'il renferme, nous étendrons une couche d'huile à la surface du liquide riche en zoospores du vase, puis nous abandonnerons l'appareil dans l'obscurité. Les zoospores se rendront maintenant en quantité considérable de l'eau du vase dans celle du tube, parce que ce dernier peut leur offrir une plus grande quantité d'oxygène.

Les organismes filamenteux, colorés d'ordinaire en vert-bleuâtre, connus sous le nom d'oscillaires sont très répandus dans les eaux stagnantes et les sols bourbeux. Ces organismes montrent divers phénomènes de mouvement que l'on peut suivre de plus près à l'aide du microscope. Les mouvements irréguliers de flexion des filaments d'oscillaires, qui se meuvent tantôt en avant, tantôt en arrière, sont particulièrement remarquables.

(1) Voy. Strasburger, *Wirkung der Wärme und des Lichts auf Schwärmsporen*, Iéna, 1878, et Klebs, *Untersuchungen aus dem botan. Institut zu Tübingen*, vol. 1, cah. 2.

Dans les phénomènes de mouvement que nous avons vus jusqu'ici, les organismes inférieurs jouent un rôle actif. Mais il y aura lieu aussi de mentionner ici quelques faits intéressants, occasionnés par les mouvements purement passifs de zoospores.

Dans une assiette, nous versons de l'eau colorée en vert, contenant une grande quantité de zoospores de *Clamydomonas* ou d'*Euglena*. Cette assiette, après avoir été recouverte d'une lame de verre, est placée ensuite au milieu d'une grande chambre sous une boite de carton. Après un certain temps, nous observons que les algues se sont groupées dans l'eau en formant des nuages disposés en cercles concentriques ou en produisant une autre figure régulière. En enlevant la lame de verre de l'assiette, nous voyons rapidement disparaître les figures. Si nous plaçons une assiette, dans laquelle on a versé de l'eau contenant des algues, de telle sorte qu'un bord de l'assiette ait une température supérieure à l'autre (devant une fenêtre, par exemple), les zoospores (même en l'absence de lumière) se grouperont suivant les cas sur l'un ou l'autre bord. D'après les recherches de Sachs (1), tous ces phénomènes seraient dus à des courants d'eau qui grouperaient les zoospores d'une façon déterminée, et qui seraient produits eux-mêmes par les conditions de température. Pour le démontrer, Sachs s'appuie sur les résultats auxquels il est parvenu par l'étude des figures d'émulsion. Le liquide qui nous sert à les produire est préparé de la manière suivante : Une racine d'alcanna, réduite en fragments grossiers, est recouverte d'huile d'olive pure. Après 24 heures, nous séparons par filtration l'huile colorée en rouge intense. Nous faisons ensuite dans un vase cylindrique en verre un mélange d'eau et d'alcool dont le poids spécifique, donné par l'aréomètre, est exactement de 0,920. Ce liquide a donc à peu près identiquement le même poids spécifique que l'huile d'olives. En versant une petite quantité du mélange d'eau et d'alcool dans un autre vase, et en y ajoutant un peu d'huile d'olives colorée, de grosses gouttes d'huile vont s'élever très lentement dans le liquide; celui-ci présente, par conséquent, un poids spécifique quelque peu supérieur à celui de l'huile.

Après ces recherches préliminaires, nous portons 5 c. c. d'huile rougie dans 500 c. c. du mélange d'alcool et d'eau, nous agitons très vigoureusement, ce qui est particulièrement important, de telle sorte que les grosses gouttes d'huile se résolvent en une infinité de fines gouttelettes. Nous avons préparé, de cette manière, le liquide d'émulsion nécessaire.

Pour l'employer, nous le versons dans une assiette plate en porcelaine, de manière qu'il forme dans celle-ci une couche de 10 à 15 mm. de hauteur. Nous recouvrons l'assiette d'une lame de verre, ou nous la laissons à découvert, et nous observons que les gouttelettes d'huiles

(1) Voy. SACHS, *Flora*, 1876.

en mouvement produisent d'abord des mouchetures et des réseaux; puis, après quelque temps (1/4 à 1/2 heure), qu'elles se groupent en figures régulières. Si l'assiette a été recouverte d'une lame de verre après avoir reçu le liquide d'émulsion, et que nous soulevions cette lame lorsque les figures d'émulsion se seront formées, ces dernières disparaîtront rapidement sous les yeux de l'observateur.

A.

B.

Fig. 104. — Figures d'émulsion (d'après Sachs).

Les figures d'émulsion ont des formes très variées. La fig. 104 B représente une forme qui se rencontre fréquemment. De telles figures concentriques ne se forment cependant que lorsque les assiettes qui contiennent l'émulsion se trouvent au milieu de la chambre. Des figures polarisées, comme celle que représente la fig. 104 A, se produisent, au contraire, lorsque l'assiette est placée dans le voisinage d'une fenêtre ou d'un poêle chauffé, et qu'un bord de l'assiette est par conséquent plus chaud que l'autre. Si nous expérimentons, par exemple, sur l'émulsion indiquée, dont l'huile a un poids spécifique très légèrement moindre que celui du mélange d'alcool et d'eau, le sommet et les lignes marginales de la figure polarisée sont toujours tournés vers le bord le plus froid de l'assiette. La formation des figures d'émulsion doit être attribuée à des courants de liquide qui, eux-mêmes, seraient dus à des différences de température. Les figures d'émulsion présentent la plus grande ressemblance avec les figures produites par les zoospores dans les conditions qui ont été indiquées plus haut, et tous ces phénomènes sont déterminés par les mêmes causes.

168. Les déplacements des corps chlorophylliens.

Les déplacements des corps chlorophylliens dans les cellules végé-

tales sont d'une grande importance au point de vue biologique. Il semblerait que nous n'avons pas affaire ici à des mouvements propres des corps chlorophylliens, mais que les déplacements qu'ils subissent seraient provoqués par les mouvements du protoplasme. Pour se rendre exactement compte des mouvements des corps chlorophylliens, il est particulièrement bon de choisir, comme matériaux d'étude, des feuilles de mousses ou des prothalles de fougères. Les corps chlorophylliens n'éprouvent en général que des déplacements peu importants dans le parenchyme palissadique des feuilles ordinaires, et dans le parenchyme lacuneux, dont les cellules montrent, il est vrai, d'importants déplacements des corps chlorophylliens, souvent ces phénomènes ne sont pas aisés à suivre pour diverses raisons.

On tient quelque temps dans l'obscurité, mais à part cela dans des conditions normales, des plantes de *Funaria hygrometrica* ou des prothalles de fougères, qu'il est assez facile de trouver dans les serres où l'on cultive des fougères. Les corps chlorophylliens prennent la position qu'ils possèdent dans l'obscurité, c'est-à-dire qu'ils émigrent, dans notre cas, sur les parois cellulaires perpendiculaires à la surface libre de l'organe. Dans les cellules d'autres objets, les corps chlorophylliens ne se comportent pas identiquement de la même manière. Les corps chlorophylliens ont une sensibilité particulière à la radiation lumineuse lorsque leur séjour dans l'obscurité n'a pas été de trop longue durée (seulement de quelques heures), et que le contenu cellulaire n'a pas été engourdi par l'obscurité, mais se montre encore phototonique. Nous exposons à la lumière diffuse des touffes de *Funaria* ou des prothalles de fougères, ayant séjourné dans l'obscurité, de manière que les plantes soient soumises par le haut à l'action des rayons lumineux. Après quelques heures, nous plaçons les feuilles de *Funaria* ou les prothalles dans une goutte d'eau sur un porte-objet, et nous les recouvrons d'une lamelle avant de les examiner. Les corps chlorophylliens ne sont plus, comme dans l'obscurité, rassemblés sur les parois latérales des cellules; ils sont réunis sur les parois antérieure et postérieure; ils se présentent par conséquent de face et dans leur plus grande dimension à l'observateur. Nous exposons immédiatement nos matériaux d'étude sur porte-objet à la lumière solaire directe. Pour prévenir un échauffement trop considérable de l'organe végétal, la face extérieure de la lamelle sera toujours abondamment couverte d'eau. Après quelques minutes, nous observerons que les corps chlorophylliens ont conservé leur place, mais que leur forme a changé. Les grains, primitivement polygonaux, ont rentré leurs angles; ils se sont arrondis et laissent apercevoir nettement une tendance à présenter la plus petite surface possible à l'action d'une lumière trop intense. Cet arrondissement des éléments constituants verts des cellules est dû à leur propre action; mais, outre ce changement de forme, une lumière trop intense provoque un déplacement des corps chlorophylliens par

l'intervention du protoplasme. Lorsque nous exposons longtemps nos matériaux d'étude à la lumière solaire directe (3/4 d'heure, dans mes expériences sur les feuilles de *Funaria*), les corps chlorophylliens se transportent des parois antérieure et postérieure des cellules sur les parois latérales, où ils vont se ranger de manière à se présenter de profil. Le groupement des corps chlorophylliens dans leur position de face réapparaîtra lorsque les préparations auront été exposées pendant quelque temps à la lumière diffuse du jour. Il n'est pas douteux que ces déplacements des corps chlorophylliens n'aient une signification physiologique pour les plantes. Dans la lumière diffuse, les éléments constituants verts des cellules se placent de manière à pouvoir utiliser entièrement les radiations lumineuses pour l'assimilation, tandis qu'en se rassemblant sur les parois latérales des cellules ils se préservent contre l'action décomposante d'une lumière trop intense (1).

169. Le mouvement des plasmodes d'Æthalium septicum.

Les plasmodes des myxomycètes sont susceptibles de mouvements particuliers. Ils peuvent ramper d'un endroit à un autre et ils modifient en conséquence incessamment leurs contours. Les conditions extérieures du milieu exercent une grande influence sur ces mouvements. C'est là un fait qui a une signification biologique considérable pour les plasmodes. L'*Æthalium septicum* se rencontre surtout sur la tannée. Les plasmodes, jaunes, doivent être recherchés au printemps (c'est en mai, par exemple, que j'ai effectué de nombreuses expériences sur cette plante) dans les portions les plus vieilles de la tannée. En dehors de cette saison et même en hiver, on trouve dans la tannée des sclérotes d'*Æthalium* présentant la forme de petites masses jaunes, tubéroïdes de 2 mm. environ de longueur, dont on peut facilement tirer des plasmodes. Il faut bien remarquer que les plasmodes sont des formations très délicates, facilement tuées, que l'on ne doit point toucher. Les morceaux d'écorce avec les plasmodes qui les recouvrent devront être traités avec précaution, et il conviendra de transporter la tannée plasmodifère dans une caisse, de la tannerie au laboratoire, sans beaucoup la secouer. Nous effectuons alors l'expérience que nous allons indiquer.

Une bande étroite de papier à filtrer suédois, humide, est plongée par un de ses bouts dans un vase à demi rempli d'eau. L'autre extrémité de la bande est suspendue librement vers le bas et étalée, au début des expériences, sur la tannée contenant les plasmodes. Si on place ensuite le tout dans l'obscurité, dans un endroit où règne une température de 25 à 30° C., les plasmodes sortiront immédiatement de la tannée et ram-

(1) Voy. Stahl, *Botanische Zeitung*, 1880, p. 321.

peront vers la bande de papier. Ce déplacement des plasmodes sur un substratum complètement imbibé d'eau n'est pas un phénomène hydrotropique; il est occasionné par un courant d'eau. Les plasmodes sont par conséquent rhéotropiques; ils se meuvent, en effet, en sens contraire du courant de l'eau.

Les plasmodes sont cependant sensibles aussi à une distribution inégale de l'humidité dans le substratum; ils ne sont pas seulement rhéotropiques, mais encore hydrotropiques. Pour démontrer ce fait, on porte des plasmodes, qui se sont rassemblés sur du papier à filtrer sous l'influence d'un courant d'eau, au milieu d'une lame de verre recouverte d'une feuille de papier à filtrer mouillée en diverses places. Les plasmodes s'étaleront régulièrement sur le substratum horizontal et mouillé dans une chambre obscure dont l'air est saturé de vapeur d'eau. Si les matériaux d'étude sont portés ensuite dans un endroit sec, mais obscur, et si on place, à peu de distance au-dessus des plasmodes, un porte-objet enduit d'une gelée étendue de gélatine, on voit bientôt (souvent déjà après quelques heures) se produire un phénomène intéressant. Le papier à filtrer se dessèche peu à peu et les plasmodes se retirent des endroits secs du substratum, pour se rassembler sous le porte-objet humide. Les plasmodes montrent donc un hydrotropisme positif. Il faut remarquer que nos matériaux d'étude, pendant la majeure partie du temps de leur développement, réagissent de la façon qui vient d'être indiquée sous une distribution inégale de l'humidité et que les plasmodes dont la fructification est proche présentent au contraire un hydrotropisme négatif.

Les plasmodes des myxomycètes ne sont pas du tout géotropiques, car lorsqu'on porte les bandes de papier à filtrer avec des plasmodes sur une surface verticale humide (par exemple sur du papier imbibé d'eau recouvrant une lame de verre), en l'absence de lumière et dans un endroit saturé de vapeur d'eau, les plasmodes s'étalent régulièrement dans toutes les directions sur le substratum.

Il est particulièrement intéressant d'étudier les actions attractives et répulsives de diverses substances sur le sens du mouvement des plasmodes. On emploiera, pour les recherches de ce genre, des plasmodes conduits à l'aide d'un filet d'eau sur du papier à filtrer, ou l'on fera usage de matériaux d'étude provenant de sclérotes d'*Æthalium* déposés sur un lit humide (plusieurs feuilles de papier à filtrer mouillées). Par ce dernier moyen, j'ai obtenu de beaux plasmodes. Lorsque ces plasmodes seront assez affamés après un long séjour sous une cloche de verre, ce qui est favorable pour la recherche que l'on a en vue, on placera de petites boules de papier à filtrer trempées dans une infusion de tan sur la masse gélatineuse étalée par le champignon. Les substances contenues dans l'infusion de tan exercent une attraction sur les plasmodes; il en résulte que les petites boules de papier, après quelques heures déjà, seront transportées dans toutes les direc-

tions par les bandelettes plasmodiques. C'est ce qui nous permettra de constater le trophotropisme des myxomycètes.

On porte un petit cristal de sel marin en un point quelconque de la portion centrale d'un plasmode étalé sur un lit horizontal humide. Les portions touchées du champignon brunissent et meurent, tandis que les parties non tuées s'écartent du sel; il se formera alors des lacunes dans le plasmode, et ces vides pourront être comblés, lorsque le sel, en se dissolvant petit à petit, sera uniformément répandu dans le substratum humide. Le chlorure de sodium, par conséquent, n'exerce pas une attraction sur les plasmodes, mais une répulsion (1).

Il est clair que cette sensibilité extraordinairement développée des plasmodes aux actions dont nous venons de nous occuper, ainsi qu'à d'autres influences extérieures aussi, possède une signification biologique pour leur organisme délicat. Nous ne nous étendrons pas davantage sur ce sujet.

II. LES NUTATIONS GÉOTROPIQUES, HÉLIOTROPIQUES, HYDROTROPIQUES ET QUELQUES AUTRES PHÉNOMÈNES DUS A LA SENSIBILITÉ.

170. La sensibilité géotropique des racines.

Les racines des plantes, surtout les racines principales, tendent à croître verticalement vers le bas; ce phénomène est provoqué par le géotropisme positif de ces organes. Nous pourrons constater expérimentalement l'existence du géotropisme positif des racines. Des graines de *Pisum*, de *Vicia Faba* ou de *Phaseolus*, après un gonflement de 24 heures dans l'eau ordinaire, seront déposées dans de grands pots de fleurs ou des caisses, remplis de sciure humide. Cette sciure doit être meuble et uniformément mouillée pour que le développement des germinations s'effectue normalement. Les graines de *Vicia Faba* tourneront leur micropyle vers le bas dans la sciure, de telle sorte que leur racine principale n'ait pas à subir de courbure. Les graines de *Phaseolus* seront déposées horizontalement sur la sciure; leur racine principale s'échappera perpendiculairement à l'axe longitudinal de la graine. Les pots de fleurs ou les caisses de bois seront placés sous une grande boite en carton ou dans une armoire, et nous retirerons de la sciure quelques germinations pourvues de racines bien verticales, lorsque

(1) Voy. Stahl, *Botanische Zeitung*, 1884, n° 10. On y trouvera aussi des données pour d'autres expériences, ainsi que des indications bibliographiques.

celles-ci auront atteint une longueur de 3 cm. environ. Après avoir été lavés avec soin, quelques-uns des matériaux d'étude seront transpercés à l'aide de grandes épingles. Nous fixerons ces germinations, de la façon indiquée par la fig. 105, dans le bouchon de liège fermant la tubulure d'une clcohe en verre de grandeur convenable, de manière que la racine soit dirigée horizontalement. Le bord inférieur de la cloche de verre sera introduit dans un cristallisoir contenant de l'eau, et la paroi intérieure de la cloche de verre, recouverte de papier à filtrer mouillé. Nous mettrons alors notre appareil dans l'obscurité. Nous pourrions aussi effectuer cette expérience plus simplement, en nous bornant à retirer de la sciure quelques-unes de nos germinations, et à les y replacer avec leur racine dirigée horizontalement. Lorsque la température sera suffisamment élevée (20 à 25° C.), nous pourrons déjà observer après quelques heures (plus tard seulement si la température est moindre) une courbure vers le bas du sommet de la racine, plus ou moins accusée suivant les cas. La racine subit une flexion positivement géotropique; sa croissance ultérieure ne se fera plus horizontalement, mais vers le bas. Si nous plaçons des germinations de *Phaseolus*, etc., dans la sciure, de manière que leurs racines soient dirigées verticalement vers le haut et que leurs sommets soient par conséquent tournés vers le haut, ceux-ci ne tardent pas à se courber et leur croissance se poursuit dans cette nouvelle direction. Dans mes recherches sur les *Phaseolus* (à 22° C.), le sommet des racines s'était déjà fortement recourbé au bout de 4 heures. Si les germinations sont déposées dans la sciure de manière que leurs racines soient dirigées obliquement vers le bas, il se produira évidemment aussi des courbures géotropiques qui tendront à diriger verticalement vers le bas la pointe de la racine.

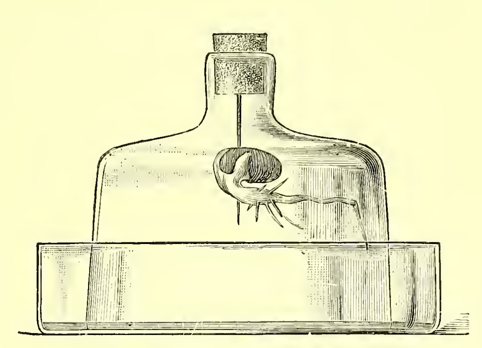


Fig. 105. — Appareil pour observer les flexions géotropiques des racines.

Pour les autres expériences, quelque peu plus spéciales sur la courbure géotropique des racines vers le bas, nous ferons d'abord usage d'une caisse spéciale comme celle que représente la fig. 106 et que Sachs, le premier, a employée. Une caisse de ce genre est presque entièrement construite en forte tôle de zinc. Mais les parois antérieure et postérieure sont formées par des lames de verre de 20 cm. environ de hauteur et 30 cm. à peu près de largeur. Ces parois ne seront pas verticales; elles auront une inclinaison de 10° environ. Le fond de la caisse, ses parois latérales métalliques et son couvercle seront percés d'un grand nombre de petites ouvertures pour permettre les

échanges gazeux dans la terre qui sera introduite dans la caisse. Nous emploierons une terre meuble, riche en humus, comme celle dont on fait usage pour les plantes de serres, que nous mouillerons légèrement de manière qu'elle puisse encore être broyée entre les mains en une masse émiettable, et que nous jetterons sur un tamis dont les orifices ont un diamètre d'1,5, mm. La terre dont on remplira la caisse ne doit pas être tassée; elle doit être meuble, afin que les racines des matériaux d'étude se développent sans subir d'excoriation. Les germinations nécessaires seront cultivées dans la sciure humide de la façon connue. Nous les utiliserons lorsque leurs racines auront quelques cm. de longueur. Il y aura lieu d'abord de tracer sur les racines quelques traits à l'encre de Chine comme points de repère. Les racines seront soigneusement desséchées à l'aide d'un linge; et les traits, tracés à l'aide d'un pinceau, seront distants les uns des autres de 2 ou 3 mm. Cette opération, qui doit être effectuée avec le plus grand soin, réussit le mieux en prenant une grande plaque de liège lisse, de 2 cm. environ d'épaisseur, sur le bord gauche de laquelle diverses grandes entailles ont été pratiquées à l'aide d'une lime ronde. De ces entailles partent à la surface de la lame de liège des gouttières produites au moyen d'une lime plus mince. Les graines seront enchâssées dans les entailles; les gouttières recevront les racines; à côté, se trouvera une règle graduée en millimètres. Les germinations, ainsi préparées, seront placées dans la terre contenue dans la caisse, leur racine dirigée horizontalement. Les racines seront exactement appliquées contre une des lames de verre et légèrement recouvertes de terre, puis nous effectuerons les observations. Nous collerons sur la face extérieure de la lame de verre un petit morceau de papier triangulaire dont un sommet coïncide avec le premier point de repère, immédiatement au-dessous du sommet de la racine. Chez les *Phaseolus* j'ai trouvé, comme Sachs l'a aussi indiqué pour les *Vicia*, que la racine continuait à croître horizontalement pendant une heure environ; le premier point de repère ne s'était donc que légèrement écarté du sommet du papier. Mais bientôt alors une courbure géotropique des racines se produisait, et des observations répétées de temps en temps permettaient de constater nettement une première courbure dans la zone située entre le premier et le second

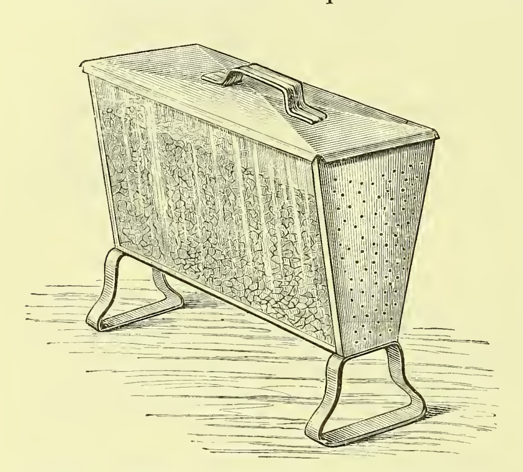


Fig. 106. — Caisse en zinc à parois de verre pour les observations sur le développement des racines.

point de repère; plus tard, les zones suivantes montraient également des courbures. Il est facile d'établir que toutes les zones en voie d'allongement de la racine participent à la flexion géotropique, et c'est là le résultat le plus marquant de notre expérience.

En effectuant ces expériences sur la croissance des racines principales de *Phaseolus* ou de *Vicia Faba* derrière une paroi de verre, nous ne pouvons omettre de nous renseigner, d'une façon générale, sur la forme de la courbure géotropique subie par nos matériaux d'étude. Nous nous servirons pour cela d'une fine lame de mica sur laquelle se trouve un système de cercles concentriques incisé avec la pointe d'un compas. En plaçant la lame de mica sur la paroi de verre derrière laquelle croît la racine, nous pourrons aisément déterminer la forme de la courbure de la racine. Au début de la nutation géotropique, elle équivaut à un arc de cercle dont le rayon est considérable. Plus tard, la courbure de la racine se montre moindre que dans le premier stade des observations. Plus tard encore, la courbure ne coïncide plus avec aucun arc de cercle; elle devient parabolique. La zone de la racine où la croissance est la plus active est fortement recourbée; en avant et en arrière de cette région, la courbure est beaucoup moindre.

Nous étudierons maintenant l'action du géotropisme sur les racines latérales, mais nous nous bornerons à examiner cette action sur les racines latérales de premier et de second ordres qui s'échappent des racines principales de *Phaseolus*, de *Pisum*, de *Vicia* et de *Zea*. Les germinations seront cultivées, dans notre caisse de terre, derrière une paroi de verre. La racine principale croît verticalement vers le bas. Les racines latérales de premier ordre, qui se forment en séries acropétales sur la racine principale, ne prennent pas cette direction; elles croissent, comme la fig. 107 le montre, plus ou moins obliquement vers le bas. Il est facile de s'assurer, en effet, que les racines latérales de premier ordre subissent l'action du géotropisme; car lorsqu'on retourne la caisse de terre de manière que le sommet de la racine principale soit dirigé vers le haut, on trouve après quelque temps que les extré-

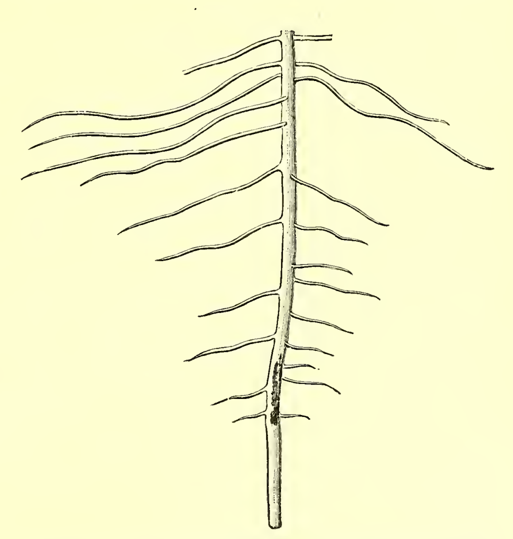


Fig. 107. — Portion d'une racine de *Phaseolus multiflorus* dont la croissance s'est effectuée derrière une paroi en verre.

mités des racines latérales en voie de croissance se sont incurvées vers le bas. Les racines latérales de premier ordre, à l'inverse des racines principales, ne croissent pas verticalement vers le bas; leur courbure géotropique positive vers le bas s'arrête lorsqu'elle fait un certain angle avec la verticale, constituant l'angle limite du géotropisme. Les racines latérales de second ordre, issues des racines de premier ordre, ne sont pas sensibles au géotropisme, comme il faudra encore le remarquer; elles poursuivent leur croissance dans toutes les positions qu'on leur donne et ne sont donc pas sensibles à l'action de la pesanteur (1).

171. La sensibilité géotropique des tiges.

Beaucoup de tiges possèdent un géotropisme négatif nettement accusé ; nous nous servirons donc aussi de tiges pour nous rendre compte de l'action de la pesanteur sur les plantes. Placés horizontalement, les organes végétaux, dont le géotropisme est négatif, s'incurvent vers le haut, phénomène facile à constater au moyen des matériaux d'étude les plus divers. Nous recouvrons de sable humide le fond d'une grande caisse en zinc; nous entassons le sable sur les parois de manière qu'il y soit assez élevé; puis, dans ces talus de sable, nous introduisons, sans remuer le sable, l'extrémité inférieure du morceau de tige dont on veut examiner le géotropisme, de manière que le restant fasse saillie à l'extérieur, et nous fermons la caisse au moyen d'un couvercle. Lorsque je plaçais horizontalement des pousses de *Chrysanthemum Leucanthemum*, par exemple, portant des boutons de fleurs, dans l'atmosphère sombre et humide de la caisse en zinc, les pousses, à 24° C., s'étaient après quelques heures déjà fortement incurvées vers le haut. Le mouvement de croissance géotropique cessait dès que la partie supérieure du morceau de tige faisait un angle droit avec la partie inférieure. On peut facilement aussi, de cette manière, provoquer des courbures géotropiques chez les épicotyles coupés à des germinations de haricots développées dans l'obscurité (voy. fig. 108). Dans mes expériences sur l'*Aristolochia sipho*, je n'employais point une pousse tout entière, mais des morceaux enlevés aux entre-nœuds en voie de croissance active. Ils montraient un géotropisme fortement négatif, et ce fait, qu'il est facile de montrer aussi sur les morceaux de tiges d'autres plantes (par exemple chez des épicotyles de germinations de *Phaseolus* développées dans l'obscurité), présente de l'intérêt si on tient compte du § 173 (où il sera question du rôle du sommet radi-

(1) On trouvera, dans mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, la bibliographie concernant le géotropisme des racines. Pour ce qui concerne les procédés de recherches, il faudra recourir à un travail de Sachs (*Arbeiten d. botanischen Instituts in Würzburg*, vol. 1.)

cal dans la production des courbures géotropiques de la racine), car il nous prouve que le sommet de la tige ne doit pas être sans importance pour le géotropisme de cet organe. Les épicotyles de *Phaseolus* conviennent particulièrement bien pour les expériences sur le géotropisme, car il est facile de cultiver les germinations de haricots en n'importe quelle saison. La faculté de réagir sous l'action de la pesanteur n'est d'ailleurs pas partout la même au point de vue quantitatif. Si les matériaux qui viennent d'être indiqués s'incurvent très rapidement et très fortement lorsqu'ils sont placés horizontalement dans un milieu humide, les jeunes pousses dépourvues de feuilles de *Sambucus nigra*, par exemple, ne subissent que lentement des courbures géotropiques dans les mêmes conditions.

L'expérience qui va suivre est intéressante; je l'ai répétée à diverses

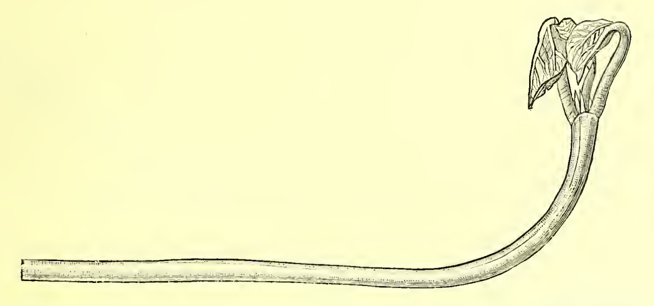


Fig. 108. — Épicotyle de *Phaseolus multiflorus* courbé sous l'influence du géotropisme négatif.

reprises. Nous introduisons l'extrémité inférieure d'une pousse feuillée d'*Hippuris vulgaris* dans le sable humide de notre caisse en zinc. Lorsque la pousse y aura séjourné dans une position horizontale pendant 1 heure à 1 h. 1/2 sous une température élevée, nous pourrons déjà remarquer une incurvation nettement accusée, mais, évidemment, pas encore très forte. La pousse est alors placée verticalement sous une cloche de verre; son extrémité inférieure est enfoncée dans du sable humide, et la pousse, soustraite à l'action de la lumière. Après quelque temps, nous observons ce fait remarquable que la courbure subie par la tige dans sa position horizontale est considérablement augmentée. Nous avons donc ici un phénomène provoqué par le géotropisme et dont il sera bientôt question. La flexion de l'objet, augmentée d'abord par sa position verticale, décroît peu à peu; la tige se redresse parce que la pesanteur, après que l'action provoquée par le géotropisme se sera éteinte, va agir de la façon ordinaire sur son sommet courbé. Ce phénomène dû à l'action ultérieure du géotropisme peut être montré aussi en faisant usage d'autres tiges.

Dans la plupart des plantes, la faculté de se courber sous l'influence de la gravitation est limitée aux entre-nœuds du sommet. Les portions

caulinaires complètement développées, situées plus bas, ne sont plus sensibles à l'action de la pesanteur. Le géotropisme des graminées est très remarquable sous ce rapport. Chez ces plantes, entre les divers entre-nœuds nettement séparés les uns des autres, se trouvent, comme on le sait, les articulations nodales, faciles à reconnaître à leur coloration et à leur forme renflée, qui représentent simplement les parties basilaires des gaines foliaires. Ces articulations nodales qui conservent relativement longtemps la faculté de s'allonger, peuvent par conséquent facilement subir des courbures géotropiques, alors que les parties du chaume qu'elles limitent peuvent déjà être raides et dures. Cette propriété de s'accroître réside nécessairement dans les cellules du renflement nodal. Les plus jeunes renflements nodaux peuvent subir des flexions géotropiques plus fortes que les renflements âgés, car leur parenchyme possède une turgescence encore très énergique, et que leurs cellules

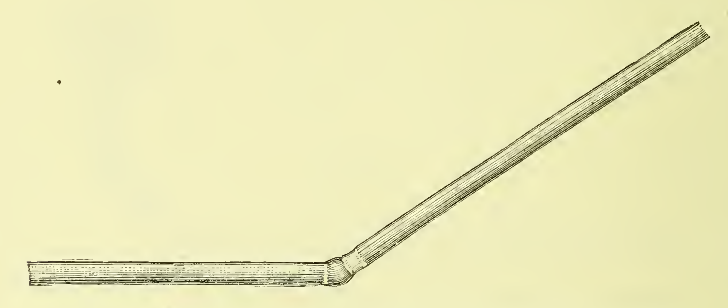


Fig. 109. — Morceau de chaume de graminée courbé géotropiquement.

ont encore la faculté de s'accroître considérablement. Lorsqu'on coupe, par exemple, dans les chaumes d'orge ou de seigle, portant des épis, des morceaux de 10 cm. environ de longueur possédant un nœud en leur milieu, pour placer aussitôt ces matériaux d'étude dans une caisse en zinc, et leur donner une position horizontale, on observe après 24 heures, par exemple, que les morceaux de chaume les plus jeunes ont subi la plus forte courbure géotropique. Le degré de courbure sera exactement déterminé en mesurant l'angle formé. Les morceaux de chaume les plus âgés ne subissent plus de courbure. La fig. 109 montre la forme que prennent les morceaux de chaume de graminées sous l'influence du géotropisme. Il est facile de s'assurer expérimentalement que les courbures géotropiques ne se manifestent pas seulement dans les morceaux de chaume intacts, mais encore dans ceux qui ont été fendus suivant leur longueur.

Quelques morceaux de chaume de graminées portant un nœud en leur milieu (dans mes expériences, des morceaux de chaume de *Hordeum*) sont enfoncés dans le sable humide, les uns horizontalement, les autres, de même âge, obliquement vers le haut. Après 1 à 2 jours, on remarque

que les premiers se sont courbés plus fortement que les derniers; les mesures d'angles le montrent immédiatement. Cette expérience, qui peut être répétée sur n'importe quelle autre tige très sensible à l'action de la pesanteur, nous apprend que l'action de la gravitation sur les plantes est d'autant plus forte que l'angle sous lequel elle exerce son influence se rapproche davantage d'un droit.

Enfin, effectuons encore quelques expériences sur la croissance des articulations nodales des graminées et d'autres organes végétaux subissant une courbure sous l'action du géotropisme. On sait que les renflements nodaux cessent de croître dès qu'ils ont atteint un certain développement, mais la croissance des cellules des renflements nodaux reprend d'une façon remarquable quand les morceaux de chaume de graminées sont placés horizontalement. Dans des chaumes d'orge ou de seigle, nous découpons des morceaux pourvus d'un nœud en leur milieu, nous marquons sur la longueur du renflement de fins traits à l'encre de Chine sur deux faces, puis nous portons nos matériaux d'étude dans la caisse en zinc. Après 2 à 3 jours, nous mesurons de nouveau l'écartement des traits d'encre sur les morceaux de chaume courbés géotropiquement, en nous servant, pour cela, d'un bout de papier présentant une division en millimètres. Nous verrons ainsi que la face inférieure, convexe, du renflement a considérablement augmenté de longueur, tandis que la face concave s'est raccourcie par suite d'une compression de ses tissus. Les courbures négativement géotropiques sont donc provoquées par l'énergie de la croissance des cellules de la face inférieure qui devient convexe.

Il est très instructif d'effectuer l'observation qui va être indiquée, et qui m'a donné des résultats particulièrement satisfaisants, en employant des morceaux de chaumes d'avoine possédant une forte flexion géotropique. On pratique des sections longitudinales radiales dans un nœud et on les observe au microscope. Les cellules du parenchyme de la face inférieure, comme on s'en aperçoit immédiatement, sont fortement étirées dans la direction de l'axe longitudinal de l'organe, tandis que les cellules de la face supérieure ont une forme tabulaire. Leur diamètre longitudinal est moindre que leur diamètre transversal. Le phénomène qui rend convexe la face inférieure d'un nœud de graminée courbé géotropiquement, provient par conséquent d'une très forte augmentation de la croissance des cellules de cette face.

Les morceaux de tiges de *Sida Napaea* conviennent particulièrement bien pour d'autres recherches encore sur la croissance des organes végétaux qui s'incurvent sous l'action du géotropisme. Nous employons des tiges soigneusement choisies, de 200 à 300 mm. de longueur, débarrassées de leurs feuilles et de leur bourgeon terminal, et formées de quelques entre-nœuds croissant bien verticalement. Nous coupons neuf morceaux de tiges semblables, nous leur donnons sensiblement la même longueur, puis nous les disposons par groupes de trois. Les

trois morceaux de tiges du premier groupe sont immédiatement examinés; pour cela, à l'aide d'un rasoir bien aiguisé, nous leur enlevons deux bandes d'écorce, dont nous mesurons la longueur. Nous déposons horizontalement trois autres morceaux de tiges dans notre caisse en zinc, contenant du sable humide. Enfin nous introduisons les trois morceaux restants, de manière qu'ils soient quelque peu inclinés, dans un vase cylindrique de verre dont le fond est recouvert de sable humide et dont l'ouverture peut être fermée à l'aide d'un bouchon. Après 24 heures, les morceaux de tiges du second et du troisième groupes seront examinés. Nous enlèverons des lambeaux d'écorce des faces convexe et concave pour en mesurer la longueur. En comparant les valeurs moyennes obtenues avec celles de l'accroissement de la pousse de *Sida* qui a été placée horizontalement, et qui s'est donc fortement courbée géotropiquement, on constate que la croissance des faces de l'organe devenues convexe ou concave est respectivement plus grande ou plus petite que celle des faces de même nom des objets de contrôle déposés dans le vase cylindrique et, par conséquent, pas ou peu courbés géotropiquement (1).

172. Les causes des courbures géotropiques.

Il est évident que l'attraction terrestre ne peut être considérée comme la source de la force qui produit le travail extérieur et intérieur que demandent les courbures géotropiques. Cette force émane, au contraire, de la plante elle-même, et la pesanteur qui agit comme cause excitatrice n'est annulée que dans certaines conditions.

Lorsqu'il se produit des courbures négativement géotropiques, il est clair qu'un travail extérieur considérable se produit ; il suffit pour s'en convaincre de se rappeler que la courbure soulève souvent à son sommet un poids considérable. De même, lors des nutations positivement géotropiques des organes végétaux, ceux-ci ne sont pas seulement attirés vers le bas d'une façon passive par la pesanteur, mais ils participent encore d'une manière active au mouvement effectué; c'est ce que met en évidence la pénétration dans le mercure des racines qui subissent des courbures positivement géotropiques. Dans un vase ayant un diamètre de 10 cm. environ, on verse une couche de mercure d'une hauteur de 3 cm. A l'aide de cire à cacheter, on fixe une plaque de liège en un point de la paroi. Puis, au moyen d'une longue épingle, on fixe sur la plaque une germination de *Vicia Faba* ou de *Phaseolus* ayant une racine de quelques cm. de longueur, de telle sorte que la partie antérieure de la racine repose horizontalement sur le mercure. On place ensuite l'appareil sous une cloche de verre après

(1) Voy. surtout SACHS, in *Arbeiten d. botanischen Instituts in Würzburg,* vol. 1, et H. DE VRIES, in *Landwirthschaft. Jahrbücher,* vol. 9.

avoir versé une petite quantité d'eau sur le mercure. Abstraction faite des phénomènes secondaires, on constate, notamment, après un temps assez long (24 heures environ) que la pointe de la racine a pénétré dans le mercure. La racine, pour se courber géotropiquement, a surmonté la résistance que le métal lui opposait, et elle va continuer à croître verticalement.

Nous savons — et nous reviendrons plus spécialement sur ce sujet — que les courbures géotropiques (abstraction faite des mouvements dus au géotropisme) sont produits par des phénomènes de croissance. La plupart des plantes ne croissant point lorsqu'elles n'ont pas d'oxygène libre à leur disposition, on peut en conclure que les nutations géotropiques ne peuvent s'opérer dans un milieu dépourvu d'oxygène. L'appareil que représente la fig. 110 permet de démontrer ce fait. Dans un grand vase cylindrique de verre placé horizontalement, nous introduisons une planchette

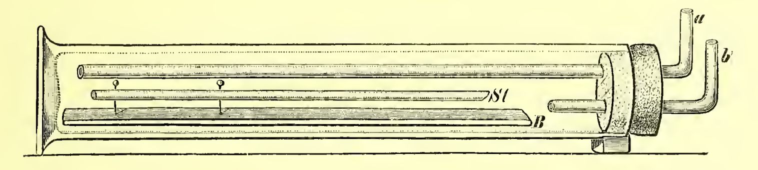


Fig. 110. — Appareil pour constater que les organes végétaux ne peuvent éprouver de flexion géotropique en l'absence d'oxygène.

enveloppée de papier à filtrer humide sur laquelle nous fixons, à l'aide d'épingles, des germinations de *Pisum* ou de *Phaseolus*, des épicotyles de cette dernière plante, ou encore des hampes de *Taraxacum* pourvues de boutons à fleurs (*St.*) Les régions de croissance des racines ou des tiges doivent être soutenues librement et horizontalement. Le cylindre est rapidement fermé au moyen d'un bouchon muni de deux ouvertures. Ces dernières reçoivent deux tubes de verre courbés à angle droit; l'un (*a*) est en communication avec un appareil à hydrogène; l'autre (*b*) sert à la sortie de ce gaz. Nous dirigerons pendant des heures un courant d'hydrogène dans l'appareil sans que les matériaux d'étude ne subissent de courbure géotropique. Dans un vase semblable, les germinations ou les pousses en contact avec l'air atmosphérique montrent rapidement d'énergiques nutations géotropiques, surtout sous des températures élevées (1).

Les recherches sur la formation des courbures géotropiques ont démontré que la gravitation, agissant comme cause excitatrice, n'influe pas directement sur la croissance des organes susceptibles de flexion, mais d'abord sur les conditions de turgescence des cellules. Nous expérimenterons sur l'axe caulinaire épicotylé de *Phaseolus*, sur de jeunes

(1) Voy. G. Kraus, *Abhandlungen der naturforschenden Gesellschaft zu Halle*, vol. 16.

sommets de pousses, de 20 cm. de longueur, d'*Aristolochia*, de *Taraxacum*, de *Plantago*, de *Papaver*, etc. Les matériaux d'étude seront déposés horizontalement dans l'atmosphère obscure et humide d'une caisse en zinc (voy. § 171). Après un certain temps (2 à 4 heures), lorsqu'ils montreront nettement une courbure géotropique vers le haut, nous les placerons sur un carton présentant des cercles concentriques. Nous chercherons le cercle dont la courbure coïncide le plus exactement avec celle de l'organe végétal, et nous mesurerons le rayon de ce cercle. Puis nous mettrons l'organe dans un cristallisoir contenant une dissolution à 20 % de sel marin. Au bout de quelques heures, nous porterons le vase sur le carton, et nous chercherons de nouveau à faire coïncider avec un des cercles la courbure du morceau de tige ramolli par la plasmolyse, en le maniant à l'aide d'une fine pince. Le rayon de ce second cercle sera plus grand que celui qui a été trouvé avant la plasmolyse. Nous voyons donc par là qu'un organe végétal courbé géotropiquement possède une flexion qui persiste après la plasmolyse : phénomène qui provient de ce que la croissance est soumise à l'influence de la pesanteur. La diminution de la courbure primitive pendant la plasmolyse devra être attribuée au contraire au changement de turgescence. Quand les matériaux d'étude auront séjourné horizontalement pendant 24 heures environ dans la caisse en zinc, leur courbure ne sera plus diminuée par la plasmolyse ; elle conservera toute son intensité, elle aura été fixée par la croissance des cellules et ne pourra par conséquent plus décroître.

Des morceaux de chaumes de graminées (j'ai expérimenté, par exemple, sur des *Secale*) de 10 cm. de longueur pourvus d'un nœud en leur milieu, sont fixés horizontalement à l'intérieur de notre caisse en zinc, et leur extrémité inférieure est introduite dans le talus de sable tassé contre une des parois de la caisse. Une courbure considérable s'observe bientôt au renflement nodal. J'ai observé dans un cas, par exemple, qu'elle était de 45°. Lorsque j'avais complètement plasmolysé le morceau de chaume, la courbure n'était plus que de 25°. L'action simultanée de la turgescence et de la croissance dans le mouvement géotropique de redressement est donc établie ici aussi d'une façon indubitable (1).

Comme je l'ai montré dans mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie*, au sujet des causes fondamentales des nutations géotropiques, on peut considérer comme un fait établi que la pesanteur ne modifie pas la turgescence des cellules des faces qui deviennent concave et convexe de l'organe qui s'incurve, mais bien la force de résistance des parties de la cellule, dilatées sous l'influence de la turgescence (le protoplasme ainsi que la membrane cellulaire). Dans les organes doués de géotropisme négatif, la force de résistance de ces parties est diminuée dans

(1) Voy. H. de Vries, *Landwirthschaft. Jahrbücher,* vol. 9, p. 500.

les cellules de la face inférieure devenant convexe, mais augmentée dans les cellules de la face qui devient concave. Il en résulte que la dilatation provoquée par la turgescence dans les cellules de la face inférieure peut augmenter, et que celle des cellules de la face supérieure peut diminuer, alors même que leur force de turgescence ne varierait pas; de là provient l'inégalité de croissance des faces antagonistes de l'organe. Il est probable aussi que la teneur en eau de la moitié inférieure de l'organe végétal qui a subi une croissance négativement géotropique, est plus élevée que celle de la moitié supérieure. Kraus (1) prétend, en effet, avoir pu constater des différences de ce genre dans la teneur en eau. Il y aurait pourtant lieu d'effectuer de nouvelles recherches sur les organes courbés géotropiquement, car les données de Kraus, du moins pour la localisation de l'eau dans les tiges héliotropiques, n'ont pas été confirmées par les observations de Thate (2).

173. Le rôle du sommet de la racine dans la production des courbures géotropiques.

Darwin (3), comme on le sait, a émis récemment, avec toute probabilité, l'hypothèse que la présence du sommet de la racine était d'une importance fondamentale pour la production des courbures géotropiques de cet organe. Pour cette raison et d'autres encore, il attribue une fonction cérébrale au sommet de la racine. C'est là, évidemment, une expression d'un choix malheureux, car elle peut donner lieu à des méprises. La question posée par Darwin, qui avait été d'ailleurs traitée auparavant par Ciesielski et Sachs, a été l'occasion de nombreuses recherches dont les résultats militent, les uns pour, les autres contre l'hypothèse du naturaliste anglais (4). Ce sont les germinations de *Pisum*, de *Zea*, de *Vicia Faba* ou de *Phaseolus* qui conviennent le mieux pour les expériences à effectuer. Dès qu'elles sont gonflées, on fait germer les graines dans la sciure humide jusqu'à ce que leurs racines, dirigées verticalement vers le bas, aient atteint une longueur de 2 à 3 cm. Puis on trace un trait à l'encre de Chine, comme point de repère, sur une série de racines (il convient d'employer un grand nombre de matériaux d'étude, 20, par exemple), à une distance de 15 à 20 mm. de leur sommet, et on place la moitié des germinations dans la sciure humide, de telle façon que leurs racines soient dirigées horizontalement. Aux autres racines, on enlève de la pointe un morceau d'une longueur de 1,5

(1) Voy. G. Kraus, *Abhandlungen der naturforschenden Gesellschaft zu Halle*, vol. 15.
(2) Voy. Thate, in *Jahrbüchern f. wissensch. Botanik* de Pringsheim, vol. 13.
(3) Voy. Darwin, *la Faculté motrice dans les plantes*, Paris, Reinwald.
(4) Voy. Wiesner, *Bewegungsvermögen der Pflanzen*, 1881; Detlefsen, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. 2; Kirchner, *Programm zur* 64. *Jahresfeier d. Akademie Hohenheim*, 1882; voy. ensuite les travaux de Krabbe, de Molisch, de Wiesner et de Brunchorst dans les deux premières années des *Berichte d. deutschen botanischen Gesellschaft*

à 2 mm., en plaçant les racines sur un petit disque de liège et en coupant, à l'aide d'un rasoir bien aiguisé, des disques transversaux le plus horizontalement possible jusqu'à ce que l'on ait atteint la limite que l'on se proposait. Les germinations décapitées sont alors déposées horizontalement dans la sciure. Après 24 à 48 heures, on mesure l'accroissement de tous les matériaux d'étude et on cherche s'il s'est produit des courbures géotropiques. Dans des expériences sur le *Phaseolus multiflorus*, j'ai trouvé que les racines normales avaient éprouvé au bout de 48 heures un accroissement beaucoup plus grand que les racines décapitées. Le sommet de la racine avait reculé de 2 mm. Ce résultat ne concorde cependant point avec les données de tous les observateurs qui ont étudié le même sujet, mais bien avec celles de quelques-uns. Mes recherches sur les *Phaseolus* ont montré ensuite que les racines des plantes intactes subissaient des courbures géotropiques normales. Les racines décapitées se courbaient évidemment aussi, mais dans une direction différente, notamment vers le haut, latéralement ou aussi vers le bas.

Je suis loin de tirer de mes observations des conclusions sur la fonction du sommet radical dans la production des courbures géotropiques. Le nombre de mes recherches sur les germinations de *Phaseolus* et de *Vicia* est trop minime. Dans les expériences sur le *Vicia*, j'ai d'ailleurs trouvé que les racines décapitées croissaient aussi activement que les intactes pendant les 24 premières heures. Il résulte, somme toute, de mes expériences personnelles que les diverses questions dont nous venons de nous occuper ne peuvent pas encore être considérées comme résolues.

Lorsqu'on parcourt la bibliographie concernant le rôle du sommet de la racine, on est étonné du grand nombre d'idées contradictoires qui règnent au sujet du rôle à attribuer à ce sommet dans la croissance longitudinale et les courbures géotropiques. Il me semble que plusieurs des aspects de la question ont été trop négligés par beaucoup d'expérimentateurs : 1° Il est possible que le sommet ne joue pas le même rôle dans la croissance et le géotropisme des racines d'espèces végétales différentes; 2° On doit toujours opérer sur de nombreux matériaux d'étude pour obtenir un résultat certain; 3° Il n'est pas indifférent pour les résultats des recherches d'enlever le sommet de la racine sur une longueur de 1, de 1,5 ou de 2 mm., car lorsque la décapitation n'est pas suffisante, il se peut encore, d'après Darwin, qu'une partie de la pointe radiculaire reste soumise à l'excitation; 4° Lorsque les recherches sont de longue durée, il y a à observer des phénomènes de régénération (1); 5° Pour les nutations des racines (voy. § 158), il importe de considérer quelle position on a donnée aux

(1) Pour ce qui concerne ce point, voy. PRANTL, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. I.

racines décapitées ou restées intactes. Il serait donc à désirer que l'on effectuât une revision critique et approfondie de cette question de la fonction du sommet de la racine.

174. Expériences à l'aide du clinostat.

Le clinostat, inventé par Sachs, est un appareil d'une extrême importance pour ceux qui s'occupent de physiologie végétale. On peut lui donner la forme que représente la fig. 111, ou bien une autre, suivant les circonstances. Dans l'appareil que j'ai à ma disposition, et qui m'a servi pour un grand nombre d'expériences (voy. fig. 111), l'axe A est animé d'un mouvement lent de rotation par un très fort mouvement

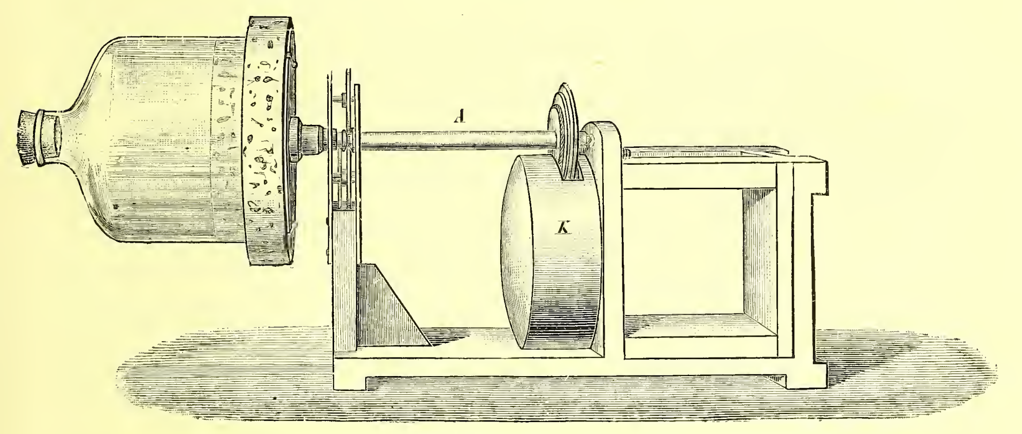


Fig. 111. — Clinostat.

d'horlogerie placé sous la capsule K. L'axe effectue une rotation complète en 20 minutes. Un disque métallique est fixé à une des extrémités de l'axe. Il porte une plaque de liège ayant exactement le même diamètre et pouvant recevoir une cloche de verre assez grande. Nous pourrons installer notre clinostat de manière que l'axe de rotation soit dirigé horizontalement, et que le disque soit par conséquent vertical, ou de telle sorte que l'axe de rotation soit vertical, et le disque horizontal.

Dans un grand nombre de cas, il convient d'employer un clinostat du genre de celui que Sachs a figuré à la page 836 de son ouvrage intitulé : *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie*. On peut se procurer le clinostat décrit et figuré par Wortmann (voy. *Berichte d. deutschen botanischen Gesellschaft*, vol. 4, p. 245) à l'établissement technique des frères Ungerer, à Strasbourg, pour le prix de 160 marcs. M. E. Albrecht, mécanicien de l'université de Tubinge, livre de très bons clinostats pour 220 à 230 marcs.

Dans notre première expérience avec le clinostat, nous fixerons sur la plaque de liège de l'appareil, à l'aide de grandes épingles, des germinations de pois ou de haricots développées dans la sciure et dont les racines principales mesurent quelques centimètres de longueur. Il n'est point nécessaire que les radicules aient une direction particulière. Nous recouvrirons ensuite les plantules d'une cloche en verre dont la tubulure est fermée à l'aide d'un peu d'ouate mouillée et dont la face interne est recouverte de bandes humides de papier à filtrer. La surface de la plaque de liège aura de même été recouverte d'une pièce d'ouate humide avant de recevoir les plantules. Le clinostat sera placé dans l'obscurité (dans une armoire ou sous une boîte en carton) et de telle sorte que son axe de rotation soit horizontal. Les matériaux d'étude effectueront donc leur rotation dans un plan vertical. Après quelques heures ou un temps plus long, nous constaterons l'absence de courbures géotropiques chez les racines des germinations, alors que les radicules des plantes déposées sous une cloche en verre, de la façon indiquée dans le § 170, subissaient immédiatement des flexions géotropiques. Lorsque leur rotation s'effectue lentement autour d'un axe horizontal, les plantes ne peuvent pas subir de courbure géotropique, parce que leur position varie constamment par rapport au rayon terrestre, et cela s'applique non seulement aux racines, positivement géotropiques, mais encore aux organes doués de géotropisme négatif. Les morceaux de chaumes de graminées et les jeunes inflorescences de *Taraxacum*, comme nous l'avons vu dans le § 171, s'incurvent fortement vers le haut quand on les place horizontalement. Fixés à l'aide d'épingles sur la plaque de liège d'un clinostat dont l'axe est dirigé horizontalement, les matériaux d'étude ne subiront plus de courbure géotropique s'ils sont animés d'un mouvement lent de rotation.

Nous plaçons dans l'eau un certain nombre de très grosses graines de *Pisum* ou de *Vicia Faba* bien conformées. Après 24 heures, lorsque les graines sont gonflées, nous les fixons par de grandes épingles sur la plaque de liège du clinostat, puis nous les recouvrons de la cloche en verre et nous les faisons tourner dans un plan vertical. Il faut avoir soin de maintenir, de la façon déjà indiquée, une certaine humidité dans l'atmosphère dans laquelle séjournent les germinations. On peut aussi procéder d'une autre façon. A l'aide d'épingles, on pique les graines gonflées à la circonférence du disque en liège; puis on place un grand vase rempli d'eau au-dessous du disque de liège en rotation, de telle sorte que les matériaux d'étude pendant une rotation complète, durant 20 minutes environ, séjournent dans l'eau à peu près 2 minutes. Après quelques jours, les racines principales se seront allongées considérablement sans subir de flexion géotropique, et elles auront développé des racines latérales de premier ordre. Ces racines latérales formeront avec la racine principale un certain angle que l'on désigne sous le nom d'angle propre des racines latérales, parce qu'il

n'est pas sous la dépendance de la lumière et de la pesanteur, et qu'il dépend seulement des causes internes de croissance. La grandeur de l'angle propre n'est même pas identique pour les diverses racines latérales qui se forment successivement sur la racine principale. L'angle propre peut être droit, aigu ou obtus (1).

Il y aura maintenant lieu de s'assurer expérimentalement que l'on peut aisément éviter, à l'aide du clinostat, l'apparition de courbures héliotropiques chez les organes végétaux, même sous l'action de la lumière, et alors que la pesanteur agit de la façon ordinaire sur les matériaux d'étude. Pour cela, nous placerons l'appareil devant une fenêtre, de manière que l'axe de rotation soit vertical et que le disque opère ainsi sa rotation dans un plan horizontal. Si nous chargeons notre appareil de petits pots de fleurs dans lesquels nous avons cultivé, dans l'obscurité, des germinations de *Vicia* ou de *Raphanus*, par conséquent des plantules très sensibles à l'action de la lumière, nous observerons que les plantes en tournant lentement ne montreront point de flexion héliotropique; sous cet éclairage unilatéral, tous les côtés des plantules en germination seront soumis successivement à l'action des radiations lumineuses incidentes, et pendant un temps trop court pour gagner des flexions héliotropiques. Comme contrôle, des germinations de *Vicia* ou de *Raphanus* cultivés dans des pots à fleurs seront soumises à un éclairage unilatéral sans tourner. Après quelques heures déjà, ces dernières plantes auront subi des nutations héliotropiques importantes, alors que les matériaux d'étude du clinostat ne se seront pas dirigés vers la lumière.

Lorsqu'une plante est soumise, sans autre précaution, à l'action d'un éclairage unilatéral, et qu'il se produit une nutation héliotropique, la grandeur de la flexion subie ne permet pas de déterminer avec exactitude le degré de sensibilité héliotropique de l'organe considéré, car celui-ci n'a pas été soustrait à l'action de la pesanteur. Un organe d'une sensibilité héliotropique déterminée ne pourra pas, dans les conditions indiquées, subir toute la flexion héliotropique dont il est susceptible, alors même qu'elle serait commencée; l'organe tendrait à se relever sous l'influence de la pesanteur. Dans les conditions ordinaires, la grandeur réelle de la flexion est par conséquent la résultante des actions exercées par la lumière et la gravitation. Le clinostat nous offre donc le moyen de soumettre les plantes à un éclairage unilatéral, tout en les soustrayant à l'influence de la pesanteur, de telle sorte que les nutations héliotropiques s'effectuent seules. L'expérience qui va suivre nous permettra de nous assurer de ce fait.

De petits tubes à réactions (j'ai employé des tubes ayant 4 cm. de longueur et 2 cm. de diamètre) sont remplis de sciure humide dans laquelle nous avons semé quelques graines de *Lepidum sativum*, que

(1) Voy. SACHS, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. 1, p. 598.

nous laissons germer en l'absence de lumière. Après quelques jours, on fixera sur le disque de liège du clinostat les tubes de verre contenant des plantules parvenues à un certain degré de développement, après avoir au préalable recouvert le disque de papier noir mat. Une petite plaque de liège, percée d'un trou en son milieu, sera fixée à l'aide de deux longues épingles sur le disque de liège du clinostat, de manière que la surface du disque soit perpendiculaire à la petite plaque de liège. Un des tubes sera alors introduit dans l'orifice de la plaque. L'axe hypocotylé des germinations sera donc parallèle à la surface du disque de liège du clinostat. Après avoir replacé la cloche en verre, sur la surface convexe de laquelle on colle des bandes de papier noir et mat, le système d'horlogerie de l'appareil sera mis en mouvement. Le clinostat sera placé devant une fenêtre de manière que l'axe de rotation fasse un angle droit avec la vitre de la fenêtre et que le plan de rotation lui soit par conséquent parallèle. Les germinations recevront donc constamment sur le même côté l'action des rayons incidents. Des flexions héliotropiques se manifesteront bientôt chez les objets. Si, après quelque temps, on place les tubes verticalement dans l'obscurité, la nutation héliotropique des germinations ne tardera pas à disparaître. Les plantules s'allongeront verticalement, parce que la pesanteur pourra alors exercer d'une façon énergique son influence dirigeante (1).

Enfin, à l'aide du clinostat, il est encore possible de soustraire tout à la fois aux nutations héliotropiques et géotropiques, les organes végétaux exposés à la lumière. Dans les expériences effectuées à l'aide de l'appareil que représente la fig. 111, la surface du grand disque de liège ainsi que le fond de la cloche en verre seront d'abord recouverts d'ouate humide ou de plusieurs couches de papier à filtrer mouillé. L'appareil sera disposé ensuite vis-à-vis d'une fenêtre, de manière que l'axe horizontal de rotation soit dirigé parallèlement à la fenêtre, mais que le plan dans lequel tournent les plantes lui soit perpendiculaire. Les matériaux d'étude (par exemple de jeunes inflorescences de *Taraxacum*, des germinations de *Phaseolus*, etc.), seront fixés sur le liège au moyen de longues épingles. Dès qu'ils seront recouverts par la cloche en verre, ils tourneront lentement. En peu de temps, les plantes seront rencontrées sur toutes leurs faces et sous le même angle par les rayons lumineux incidents, ce qui empêchera les flexions héliotropiques. Dans ces conditions, les nutations géotropiques seront évidemment éliminées aussi.

Le procédé qui va être indiqué permettra aisément, comme j'ai pu le voir, d'éviter les flexions héliotropiques et géotropiques. On cultive dans de petits tubes à réactions, de 4 cm. de longueur et 2 cm. de diamètre, remplis de sciure humide, des germinations de *Triticum vulgare*, de *Sinapis alba* ou de *Lepidium sativum*. Au moment où les or-

(1) Pour ce qui concerne les détails, voy. Müller-Thurgau, in *Flora*, 1876, n° 5.

ganes aériens des germinations poindront hors de la sciure, les tubes seront fixés sur le bord du disque de liège d'un clinostat, le disque étant disposé parallèlement à la vitre d'une fenêtre. Pour cela, on introduira le tube dans un petit anneau en liège que l'on fixera ensuite, à l'aide d'épingles, sur le disque de liège du clinostat. Les flexions héliotropiques et géotropiques seront alors évitées lorsque les matériaux d'étude tourneront lentement à la lumière dans un plan vertical.

Il sera encore instructif de répéter l'expérience que nous allons indiquer et qui est due à Sachs (1). On ensemence les 6 faces d'une tranche de pain humide avec des spores de *Mucor Mucedo*, on fixe la tranche à l'aide d'une longue épingle sur un clinostat placé devant une fenêtre et dont l'axe de rotation est dirigé parallèlement à la fenêtre, puis on met aussitôt l'appareil en mouvement. Sous une haute température estivale, les pédicelles fructifères du *Mucor* atteignent en peu de jours une hauteur considérable, mais ils ne présentent ni flexion héliotropique ni flexion géotropique; ils sont dressés sur le substratum. Les pédicelles fructifères doivent cette position à leur hydrotropisme négatif.

175. Expériences sur la force centrifuge.

Par ses intéressantes recherches, Knight (2) a prouvé le premier que les plantes soumises à une rotation très rapide montraient des phénomènes de croissance particuliers. Nous nous assurerons de ce fait au moyen de l'appareil que représente la fig. 112, et dont je puis, par expérience personnelle, recommander l'usage pour les démonstrations. Pour la construction de notre appareil à force centrifuge, que chacun pourra effectuer aisément, nous emploierons d'abord une tige de laiton dont l'extrémité inférieure est effilée en pointe (fig. 112 *St*). Cette tige porte près de son extrémité inférieure, un bouchon K' bien assujetti, à la périphérie duquel sont fixées quelques ailes de laiton (6, par exemple) placées obliquement. La partie supérieure de la tige de laiton traverse le milieu d'un second bouchon (K'') possédant le plus grand diamètre possible et, de même, fortement fixé à la tige. Avant de nous servir de l'appareil, nous mouillerons ce dernier bouchon. Puis, nous placerons à sa surface quelques couches de papier à filtrer humide, et, à l'aide de longues épingles, nous fixerons les matériaux d'étude sur le bouchon, surtout à proximité de sa périphérie (par exemple des germinations de pois, avec des radicules droites de 0,5 à 1 cm. de longueur, développées dans une sciure humide et meuble). Enfin, après avoir recouvert la face interne de la cloche ou du cristallisoir de pa-

(1) Voy. Sachs, *Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg*, vol. 2, p. 217.
(2) Voy. Knight, *Philosophical transact.*, 1806, t. 1, p. 99.

pier à filtrer humide, nous placerons sur les germinations une cloche tubulée en verre ou un cristallisoir assez élevé, dont le fond, dans mes recherches, était pourvu d'un orifice bouché au moyen d'ouate mouillée. Notre appareil à force centrifuge sera disposé de telle sorte que la tige de laiton (axe de rotation) soit dirigée horizontalement ou verticalement. Lorsque la tige se trouvera dans une position verticale, son extrémité inférieure reposera sur un bloc de verre dont la face supérieure est légèrement creusée, et son extrémité supérieure sera embrassée par un petit anneau métallique (voy. fig. 112). Pour mettre l'appareil en mouvement, nous dirigerons sur les ailes un courant d'eau continu à l'aide d'un tube de verre étiré en pointe, en communication avec la conduite d'eau. Nous obtiendrons ainsi une vitesse de rotation très considérable. Sous une température élevée (supérieure à 20° C.), nous remarquerons nettement, après quelques heures déjà, l'action de la force centrifuge sur les racines des germinations. Les pointes des racines seront tournées vers l'extérieur. Cela aura lieu en toute circonstance, quelle que soit la manière dont les matériaux d'étude auront été fixés sur l'appareil. Les racines qui tournent rapidement obéissent toujours à la force centrifuge, tout comme elles prennent la direction de la pesanteur lorsqu'elles sont dans des conditions normales. Si l'axe de rotation de notre appareil à force centrifuge, tournant rapidement, est placé horizontalement, les flexions sont déterminées uniquement par l'action de la force centrifuge; si l'axe de rotation est vertical, la force centrifuge et la pesanteur agissent simultanément sur les racines en voie de croissance. C'est ce dont il faudra tenir soigneusement compte dans l'interprétation des résultats des expériences (1).

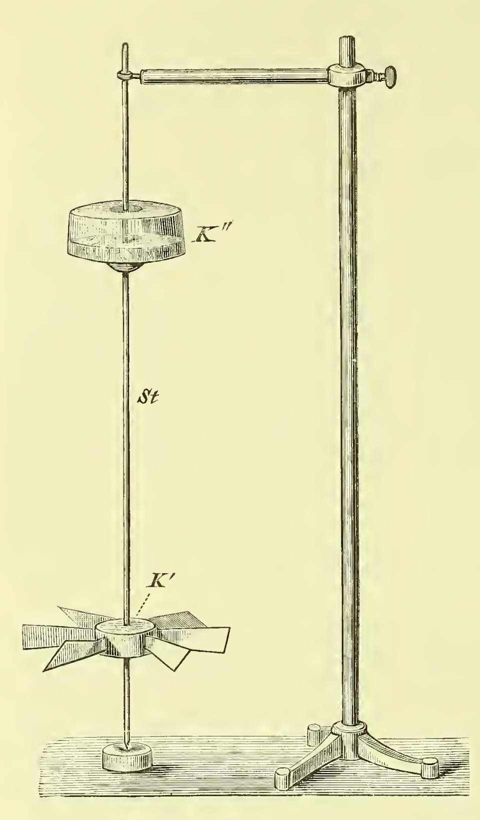


Fig. 112. — Appareil à force centrifuge.

(1) Pour ce qui concerne les détails, voy. Sachs, in *Arbeiten des botanischen Instituts in Würzburg*, vol. 1, p. 607.

176. Les nutations héliotropiques.

Soumis à un éclairage unilatéral, un grand nombre d'organes végétaux, surtout les jeunes tiges, se dirigent vers les radiations lumineuses; ils manifestent donc un héliotropisme positif. Quelques organes végétaux, les racines de certaines crucifères, par exemple, sont négativement héliotropiques; ils s'incurvent du côté opposé à la lumière sous un éclairage unilatéral. Sur l'ouverture d'un vase complétement rempli d'eau ordinaire est fixé un morceau de tulle à mailles étroites sur lequel reposent quelques graines gonflées de moutarde blanche (*Sinapis alba*). Le vase est placé ensuite sous une cloche en verre recouvert lui-même d'un cylindre en carton. Pendant la germination, effectuée dans l'obscurité, les racines s'enfoncent verticalement dans l'eau, et l'axe hypocotylé croît verticalement vers le haut. Pour soumettre nos matériaux d'étude à l'action d'une radiation unilatérale, nous porterons le vase, avec les germinations, sous un bocal cylindrique en verre recouvert, à l'exception d'une fente étroite, de papier noir mat, ou sous une boîte en carton recouverte intérieurement de papier noir mat et pourvue d'une fente. Après quelques heures, nous pourrons déjà voir distinctement que l'axe hypocotylé des germinations se sera infléchi vers les radiations lumineuses pénétrant par la fente de notre dispositif tandis que les racines auront pris une courbure en sens opposé. La fig. 113 représente une germination dont l'axe hypocotylé a subi une nutation positivement héliotropique, mais dont la racine est négativement héliotropique.

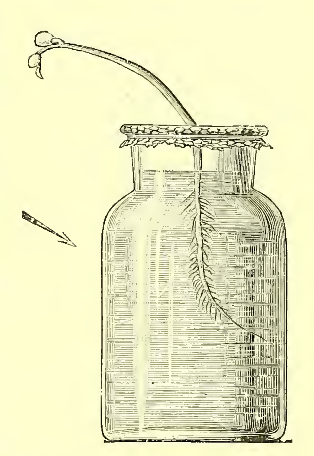


Fig. 113. — Germination de *Sinapis alba*. L'hypocotyle a subi une flexion héliotropique positive ; la racine, une flexion héliotropique négative.

Il y a relativement peu d'organes végétaux négativement héliotropiques. Mais l'héliotropisme positif, au contraire, est très fréquent. De bons matériaux d'étude nous seront fournis par des germinations développées dans l'obscurité de *Phaseolus multiflorus*, de *Vicia sativa* et de *Lepidium sativum*. Nous cultiverons ces plantes dans de petits pots à fleurs pleins de terre meuble de jardin, et nous les exposerons, de la façon connue, à une radiation lumineuse unilatérale, lorsque l'hypocotyle ou l'épicotyle des germinations sera en voie de croissance active. Des courbures héliotropiques ne tarderont pas à se produire; elles sont parfois si fortes que les sommets des tiges se dirigent parallèlement aux radiations incidentes. La sensibilité héliotropique n'est d'ailleurs

pas la même dans tous les organes végétaux. Les épicotyles de *Vicia sativa*, par exemple, sont très sensibles à l'action de la lumière, tandis que ceux de *Phaseolus multiflorus* ne réagissent déjà plus aussi énergiquement sous l'influence de cette force. Si on coupe des jeunes pousses de *Sambucus nigra*, pour les plonger dans l'eau par leur base et les éclairer unilatéralement après les avoir dépouillées de leurs feuilles, on remarque qu'elles ne se dirigent que lentement vers la source lumineuse. Dans tous les cas, leur sensibilité héliotropique paraît être de peu d'importance. Mais on ne pourra se rendre exactement compte de ce phénomène que par des recherches approfondies, à l'aide du clinostat et en évitant les nutations géotropiques (voy. § 174).

Des germinations de *Lepidium sativum* ou d'autres matériaux d'étude cultivés en pots, rencontrés par une lumière très faible, s'incurvent lentement vers la lumière. Placées contre une fenêtre tournée vers le sud, les germinations de *Lepidium*, cultivées jusqu'alors dans l'obscurité, montrent plus rapidement dans la lumière diffuse unenutation héliotropique de leurs tiges que lorsqu'elles sont éloignées de quelques mètres de la fenêtre et qu'elles reçoivent un éclairage unilatéral. Mais une forte intensité lumineuse semble retarder de nouveau la formation de nutations héliotropiques.

Des germinations cultivées en pots (j'ai expérimenté sur des *Lepidium*) portées, d'après la méthode indiquée dans le § 5, sous une caisse où elles reçoivent l'action du mélange des radiations lumineuses jaunes qui ont traversé une solution de bichromate de potassium, se courbent beaucoup plus lentement vers les rayons lumineux incidents que lorsqu'elles se trouvent sous l'influence du mélange des radiations lumineuses bleues qui ont passé à travers une dissolution ammoniacale d'oxyde de cuivre. Les rayons lumineux les moins réfringents, et les plus actifs dans la décomposition de l'anhydride carbonique par les grains de chlorophylle, sont aussi les plus importants pour la production de nutations héliotropiques.

Le procédé expérimental peut pourtant subir de légères modifications. Les graines de *Raphanus sativus* peuvent être déposées, par exemple, dans de petits pots à fleurs contenant de la terre de jardin que l'on place tout d'abord sous des cloches doubles (voy. fig. 7). Dans mes expériences, les plantes qui s'étaient développées sous l'influence du mélange de radiations bleues ayant traversé la dissolution ammoniacale d'oxyde de cuivre montraient des nutations héliotropiques très fortes. Les matériaux d'étude étaient restés à peu près verticaux lorsqu'ils avaient été éclairés pendant leur croissance par le mélange de radiations lumineuses jaunes sortant d'une dissolution de bichromate de potassium.

Irradié unilatéralement, le *Mucor Mucedo* se courbe vers la source lumineuse, lorsqu'il a été cultivé dans l'obscurité sur du pain, d'après la méthode donnée dans le § 178. On peut en conclure que les pédi-

celles fructifères unicellulaires de *Mucor* sont doués d'un héliotropisme positif. Comme je l'ai spécialement montré dans mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie* (p. 308), c'est là un fait qui paraît avoir de l'importance pour la théorie de l'héliotropisme.

Lorsqu'il se produit des nutations héliotropiques, la face de l'organe végétal qui devient convexe sous l'excitation de la lumière, possède toujours une croissance plus active que celle qui devient concave. Une expérience très simple permet d'ailleurs de montrer que les nutations héliotropiques ne se produisent que dans les organes végétaux en voie de croissance. Nous cultiverons des germinations de haricots dans l'obscurité. Lorsque leur épicotyle aura atteint une longueur de quelques centimètres, nous tracerons, à l'aide d'un pinceau, sur leur tige, de fins traits à l'encre de Chine écartés les uns des autres de 5 mm. Si nous soumettons nos matériaux d'étude à un éclairage unilatéral, nous n'observerons de flexion héliotropique que dans la région supérieure, encore en voie de croissance, de l'épicotyle.

Des germinations étiolées de vesces sont soumises pendant 12 heures environ à un éclairage unilatéral; après quoi, leurs épicotyles, coupés, sont portés dans une dissolution à 15 % de sel marin ; la courbure héliotropique ne sera pas annulée par la plasmolyse, car elle avait déjà été complètement fixée par des phénomènes de croissance. Mais si on n'éclaire latéralement les germinations de vesces que jusqu'à ce que leur épicotyle soit légèrement courbé, la flexion sera quelque peu diminuée par la plasmolyse. La portion de la courbure qui provient d'une différence dans la dilatation due à la turgescence des cellules des faces convexe et concave de l'organe en voie de croissance, peut, au moins, encore se redresser (1).

177. L'hydrotropisme des racines.

Quand les racines se développent dans un milieu dans lequel l'humidité n'est pas uniformément répandue, elles subissent des flexions hydrotropiques. Il est facile de répéter l'expérience au moyen de laquelle Sachs (2) a prouvé que les racines sont douées d'un hydrotropisme positif. Pour montrer les phénomènes dus à cette force, on emploie le dispositif que nous allons indiquer. Sur un cylindre de forte tôle de zinc, de 5 c. de hauteur et 20 c. de diamètre, on étend du tulle à larges mailles de manière à obtenir un tamis dont le fond est formé par le tulle. Le tamis, rempli de sciure de bois humide, reçoit des graines gonflées. Mes expériences ont été effectuées sur des graines de *Phaseolus,* mais on pourrait tout aussi bien employer d'autres

(1) On trouvera dans mon *Lehrbuch der Pflanzenphysiologie,* Breslau, 1883, p. 303 et 304, de nombreuses indications bibliographiques sur l'héliotropisme.

(2) Voy. Sachs, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg,* vol. 1, p. 209.

graines (*Pisum*, *Zea*, etc.). L'appareil est suspendu obliquement au moyen de trois cordons dans une armoire ou dans une grande boîte en carton, de façon que le fond du tamis fasse un angle de 45° environ avec l'horizon. Les racines principales des germinations développées dans une obscurité complète, ne tarderont pas à s'échapper par les mailles du tulle. Au lieu de croître verticalement vers le bas, leur pointe se glissera aussitôt obliquement sur la surface inférieure du tamis et continuera sa croissance en restant exactement appliquée contre cette surface. A leur sortie du tamis, les racines se dirigent vers le côté où la couche de sciure fait le plus petit angle aigu avec la verticale. La flexion produite provient d'une répartition inégale de l'humidité sur la face des racines tournée vers la sciure et sur la face opposée. Toutefois il est particulièrement remarquable que le côté qui devient convexe, et dont la croissance est par conséquent la plus active, est précisément celui qui n'est pas tourné vers le fond humide du tamis. Ces flexions de racines ne se produisent point lorsqu'on suspend l'appareil horizontalement ou même obliquement dans une atmosphère complètement saturée de vapeur d'eau, par exemple sous une grande cloche en verre dont la paroi a été mouillée. Dans ce cas, les racines principales des germinations croissent verticalement vers le bas. Il ne peut alors se produire de flexion due à une croissance inégale des faces de la racine par suite d'une distribution inégale de l'humidité. En l'absence de lumière, les racines qui se développent dans un milieu saturé de vapeur d'eau, obéissent uniquement à l'influence de la pesanteur.

178. L'hydrotropisme du Mucor Mucedo.

Dans le § 33, nous avons déjà eu l'occasion d'étudier le *Mucor Mucedo*. Comme Wortmann (1) a pu l'établir, les pédicelles sporangifères des *Mucor* se distinguent par leur hydrotropisme négatif. Ils se détournent des corps humides au voisinage desquels ils se développent. J'ai pu m'assurer qu'il était facile de démontrer ce fait au moyen du procédé qui va suivre.

Une petite quantité de bouse de vache ou de crottin de cheval sera laissée pendant quelques jours sous une cloche en verre. Il se développera une luxuriante végétation du *Mucor Mucedo* : le champignon dont nous ferons usage pour nos recherches. Nous placerons ensuite une petite tranche de pain humectée d'eau dans un vase plat en verre que nous recouvrirons d'une lame de verre, appliquée exactement contre le bord du vase et pourvue en son milieu d'un orifice de quelques millimètres de diamètre. Avant de déposer la lame de verre sur le vase, nous porterons, au moyen d'une épingle flambée, du fumier sur le pain, quel-

(1) Voy. WORTMANN, *Botanische Zeitung*, 1881.

ques sporanges mûrs de la culture de *Mucor*, et nous en répandrons les spores sur le pain. Ces spores ne tarderont pas à germer; après un jour ou deux, quelques pédicelles sporangifères s'échapperont déjà par l'ouverture de la lame de verre. Il s'agira alors de constater l'hydrotropisme négatif de ces organes. Pour cela, nous fixerons une bande de carton épais sur un bouchon avec de la cire à cacheter. Puis nous humecterons le carton, et nous le placerons le plus près possible des pédicelles sporangifères sortant de l'ouverture de la lame de verre. L'appareil sera maintenant, comme aussi après l'ensemencement des spores de *Mucor*, recouvert d'une boîte en carton afin de le soustraire à la lumière. Après 24 heures environ, la longueur des pédicelles sporangifères aura considérablement augmenté, et il sera facile de remarquer que leur croissance ne s'est point effectuée verticalement. Ils présenteront une courbure dont la face convexe sera tournée vers la bande humide de carton.

179. Les mouvements provoqués dans les feuilles et les organes floraux par les changements d'éclairage et les variations de température.

Comme les recherches expérimentales de plusieurs physiologistes l'ont prouvé, il existe un grand nombre de feuilles et de pièces florales, dont la croissance n'est influencée qu'à un minime degré par les fluctuations de température, mais qui sont extrêmement sensibles aux changements qui surviennent dans les conditions d'éclairage. Nous nous efforcerons d'abord d'étudier avec précision quelques phénomènes concernant le sujet dont nous aurons ici à nous occuper.

Nous examinerons des exemplaires, croissant à l'extérieur, d'*Impatiens parviflora*, de *Chenopodium bonus Henricus* et de *Mirabilis jalapa*. Les phénomènes de mouvement présentant de l'intérêt pour nous se montrent distinctement dans les plus jeunes feuilles en voie de développement. Pendant le jour, ces feuilles sont placées plus ou moins horizontalement; pendant la nuit, au contraire, elles prennent une autre position. Chez le *Chenopodium*, et surtout chez le *Mirabilis*, les feuilles se redressent le soir, tandis qu'elles s'abaissent alors chez l'*Impatiens;* elles passent donc ainsi, lorsque l'obscurité survient, de la position horizontale à la position verticale. Le jour suivant, les feuilles reprennent la position qu'elles ont à la lumière.

J'ai effectué les observations qui vont suivre, sur les mouvements des fleurs, et qui peuvent être facilement répétées, en employant des plantes croissant à l'extérieur.

J'ai pu constater que les capitules de la plupart des plantes de *Taraxacum officinale* s'ouvraient les jours de soleil, au commencement de mai, entre 7 et 8 heures du matin, pour se refermer l'après-midi entre 4 et 5 heures. Les fleurs de *Tradescantia* restent ouvertes toute la jour-

née quand le ciel est couvert; mais, sous un ciel serein, elles se referment le matin vers 10 heures. Les capitules de *Tragopogon pratensis* sont ouverts le matin. Mais en juin, ils se ferment au soleil à 9 heures, et par un temps couvert vers 11 heures. Les fleurs d'*Adonis vernalis* ainsi que les capitules de *Bellis perennis* et de *Leontodon hastilis* (voy. les fig. 114 et 115, représentant un capitule ouvert et un capitule fermé de *Leontodon*) se ferment le soir, pour se rouvrir le lendemain matin. J'ai trouvé que les feuilles d'*Adonis*, à la fin d'avril, se

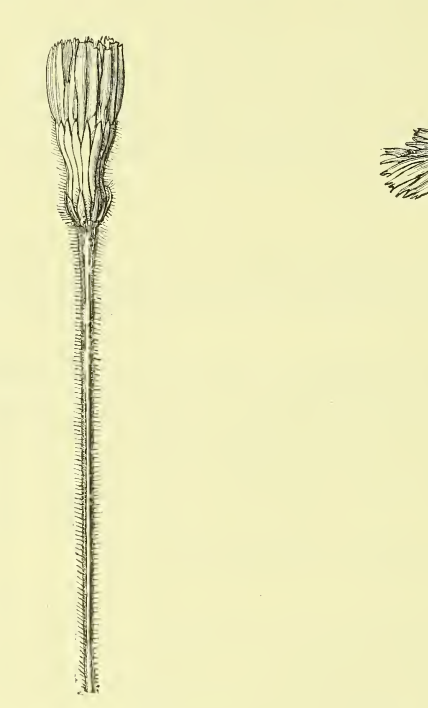


Fig. 114. — Inflorescence de *Leontodon hastilis*. Capitule fermé.

Fig. 115. — Inflorescence de *Leontodon hastilis*. Capitule étalé.

ferment à 3 heures de l'après-midi, alors que la fermeture des capitules de *Bellis* placées dans leur voisinage ne se produisait qu'une demi-heure plus tard. Pendant le jour, j'ai porté dans l'obscurité des inflorescences coupées de *Leontodon hastilis* placées dans l'eau. Les capitules, fermés le soir, s'ouvraient de nouveau le lendemain matin, bien que les matériaux d'étude fussent restés constamment dans l'obscurité. Le soir venu, ils ne montraient évidemment plus un mouvement très accentué de fermeture. Le jour suivant, les inflorescences furent derechef exposées à la lumière. A la soirée, les capitules se fermèrent d'une façon tout à fait normale. Les résultats de cette expérience montrent que les fleurons des capitules de *Leontodon hastilis* — et

d'autres fleurs se comportent certainement d'une manière analogue — présentent des mouvements dûs à des effets ultérieurs, lorsqu'ils sont exposés à une obscurité constante, qui déterminent l'épanouissement du capitule pendant le jour et sa fermeture pendant la nuit. Ces mouvements ne sont naturellement pas de longue durée. Les fleurs seront immobilisées (rigidité due à l'obscurité) après quelque temps, mais elles pourront cependant reprendre l'état phototonique si on les éclaire de nouveau.

D'après ce que nous venons de voir, il est clair que les mouvements périodiques qui se produisent dans les feuilles et les fleurs dans les conditions naturelles, c'est-à-dire sous l'alternance du jour et de la nuit, ne sont pas la conséquence unique et immédiate du changement d'éclairage. Les actions paratoniques, amenées par ce changement lorsque la période diurne apparaît, se combinent avec des mouvements dus à des effets ultérieurs qui ont évidemment aussi pour cause initiale le changement des conditions d'éclairage. Cette circonstance permet de comprendre ce fait, dont j'ai pu reconnaître l'exactitude, que les capitules de *Leontodon hastilis*, par exemple, placés l'avant-midi dans l'obscurité, ne se fermaient le soir qu'un peu plus tôt que ceux qui avaient été éclairés pendant toute la durée du jour. L'action paratonique de l'obscurité peut être reconnue, il est vrai, dans le résultat de l'expérience, parce que le séjour dans l'obscurité a été de longue durée, mais les capitules ne se sont fermés alors que sous l'influence d'effets ultérieurs. Dans d'autres cas, d'ailleurs, les actions paratoniques sont plus accusées.

Les mouvements des feuilles et des fleurs, provoqués par l'alternance des conditions d'éclairage, sont produits par des phénomènes de croissance, comme Pfeffer (1) l'a surabondamment prouvé. L'alternance d'éclairage agit uniformément sur la croissance des parties basilaires motrices des organes foliaires mais les masses histologiques antagonistes des organes étant affectées inégalement vite, il se produira des mouvements nyctitropiques dont nous aurons à nous occuper. La signification biologique de la position verticale nocturne de beaucoup de feuilles doit être certainement de les protéger contre un rayonnement calorifique trop intense, qui pourrait être facilement suivi de conséquences préjudiciables pour les plantes. L'épanouissement et la fermeture des fleurs sont en relation avec la fécondation.

De même que l'alternance d'éclairage, les variations de température provoquent de vifs mouvements dans certains végétaux. Nous nous occuperons surtout des fleurs. Il faut citer, comme matériaux d'étude remarquables, les exemplaires en fleurs de *Tulipa gesneriana* et, surtout, ceux de *Crocus vernus* (variété à fleurs blanches). J'ai porté des exemplaires de cette dernière plante, d'une chambre

(1) Voy. Pfeffer, *Pflanzenphysiologische Untersuchungen*, 1873.

dont la température était de 19° C., dans une autre chauffée à 5° C. Les fleurs, d'abord ouvertes, ne tardèrent pas à se fermer. Si les plantes de *Crocus* à fleurs fermées sont portées, d'une chambre où règne une température de 5° C., dans une autre où le thermomètre accuse 19° C., les fleurs s'ouvriront rapidement. Le mouvement de fermeture des pièces florales par le refroidissement, d'une part, et leur épanouissement par l'échauffement, d'autre part, s'effectuaient si vivement dans mes expériences qu'il pouvait être constaté à l'œil nu après quelques minutes. Les fleurs de *Crocus* sont d'ailleurs déjà sensibles à de très faibles variations de température. Les mouvements induits par les changements de température se produisent aussi bien à la lumière que dans une obscurité constante.

180. La flexion darwinienne.

Nous faisons germer des graines de *Vicia Faba* dans la sciure de bois, et nous laissons les matériaux d'étude dans la couche de sciure jusqu'à ce que leurs racines aient atteint une longueur de quelques centimètres. Il s'agira alors de blesser les pointes des racines sur une de leurs faces. D'après mes expériences, cela s'effectue de la façon la plus commode en touchant un côté de la racine avec un petit morceau de pierre infernale. Il faudra veiller à ce que la pointe de la racine ne vienne en contact avec le nitrate d'argent que sur une longueur de 1, 5 mm. Si on se reporte à ce qui a été dit dans le § 155, on comprendra qu'il n'est pas indifférent d'exciter n'importe quelle face, et qu'il convient d'ordinaire de n'exciter ni la face antérieure ni la face postérieure de la racine, mais une des faces latérales. Les matériaux d'étude seront alors disposés, de la façon indiquée dans le § 152, dans un vase cylindrique en verre, et abandonnés dans l'obscurité. Après 12 à 24 heures, on trouvera que le côté de la racine touché par la pierre infernale est devenu convexe; l'allongement de la face excitée dans la région de croissance de la racine est beaucoup plus actif que sur la face opposée, de sorte qu'une lésion unilatérale de la pointe de la racine provoque un phénomène particulier de nutation. Il a reçu le nom de flexion darwinienne. Si la pointe de la racine n'a pas été excitée par la pierre infernale, mais d'une autre manière, il se produira également des nutations. Au point de vue biologique, il est important de constater que les racines s'éloignent toujours du corps agissant comme cause excitatrice et déterminant la blessure (1).

On observe le contraire dans les nutations que présentent les racines dont l'excitation n'a pas eu lieu au sommet, mais dans la région en

(1) Voy. Darwin, *la Faculté motrice dans les plantes*, 1882; Wiesner, *Bewegungsvermögen der Pflanzen*, p. 139.

voie de croissance active. Les racines se dirigent alors, identiquement comme les vrilles, vers les corps agissant comme causes excitatrices. Quelques germinations de pois seront piquées par des épingles sous une cloche en verre arrosée d'eau, de telle façon que leurs racines, d'une longueur de 2 cm. environ, soient dirigées horizontalement. Près de chaque germination, une fine épingle sera placée en contact avec la région où la croissance est la plus active (par conséquent à 3 mm. environ du sommet). Le contact, comme chez les vrilles, déterminera une excitation. La face libre de la racine deviendra convexe par suite d'une croissance plus active, et la racine, après quelque temps, s'enroulera autour de l'épingle.

La piqûre des insectes provoque sur les organes végétaux des excitations particulières, dont nous nous occuperons brièvement. Les innombrables galles d'espèces si différentes que l'on rencontre sur les feuilles, par exemple, sont produites de cette façon. L'examen attentif d'une galle ne sera par conséquent pas dépourvu d'intérêt au point de vue physiologique.

On observe dans le cours de l'été sur les feuilles d'un grand nombre d'espèces de saules des galles charnues, qui proéminent sur les deux faces de la feuille et qui ressemblent souvent à de petits haricots. Ces galles sont produites par la piqûre d'un insecte (*Nematus Vallisnerii*). Celui-ci dépose ses œufs dans le tissu des feuilles très jeunes, et la chenille qui provient de l'œuf se développe dans la galle, qui peut acquérir des dimensions relativement considérables. L'excitation produite par la piqûre provoque l'hypertrophie du tissu foliaire que nous présente la galle. De minces sections transversales, examinées au microscope, nous montrent que la galle de *Nematus* se compose principalement d'un tissu à petites cellules à peu près isodiamétriques. Des cellules allongées dans le sens du rayon sont cependant visibles en divers points de ce tissu. Remarquons encore que le tissu est formé de cellules plus petites au milieu de la galle que dans ses parties périphériques.

Des recherches récentes de Kohl (1) et surtout de Wortmann (2) ont très sensiblement contribué à augmenter nos connaissances sur les causes des flexions provoquées chez les végétaux (3). Je rapporterai ces observations, que j'ai, en partie, répétées, car elles sont, en effet,

(1) Voy. Kohl, in *Botan. Heften, Forschungen aus d. botan. Garten zu Marburg*, vol. 1, cah. 5.
(2) Voy. Wortmann, *Botan. Zeitung*, 1867.
(3) Je ne puis partager les doutes de Elfving sur les résultats des expériences de Wortmann ; au surplus, voy. Wortmann, *Botan. Zeitung*, 1888.

d'une grande importance; et, outre les travaux qui viennent d'être cités, j'emploierai pour cet exposé quelques notes que je dois à l'amabilité de Wortmann.

On coupe un petit pain, vieux de 24 heures, et on parsème à sa surface des spores de *Phycomyces nitens*. Puis on humecte uniformément le pain à l'aide d'une pissette, mais en ayant soin de ne pas le rendre trop humide, et on le place dans un cristallisoir, sous une grande cloche en verre. A la température ordinaire, les premiers pédicelles fructifères, très délicats, apparaissent après 4 à 5 jours. On humecte de nouveau légèrement le petit pain, et bientôt, après 24 heures environ, on observe des pédicelles fructifères plus vigoureux. Les spores mûres sont enlevées des sporanges à l'aide d'une aiguille et semées sur un autre petit pain, vieux de 24 heures aussi, pour recommencer la culture de cette espèce à l'aide du procédé qui vient d'être employé. Il convient de n'employer, pour les recherches que nous avons ici spécialement en vue, que la troisième ou la quatrième génération de *Phycomyces*.

On dépose un petit pain dans une boîte ne laissant pénétrer la lumière que par une fente étroite dans sa paroi antérieure, ou on place une tranche de pain dans une position verticale. Cette expérience, comme d'ailleurs aussi les cultures qui la précèdent, sera effectuée en l'absence de lumière. Après quelques heures déjà, les pédicelles fructifères auront subi soit des flexions héliotropiques, soit des flexions géotropiques. On fera usage, pour les observations qui vont suivre, de pédicelles fructifères fortement incurvés, mais en ayant soin de choisir ceux qui sont parfaitement libres et qui n'ont pas subi le contact des autres. Les plantules seront retirées du substratum et déposées sur le porte-objet dans une dissolution à 3 à 5% de saccharose, et non dans l'eau par conséquent, puis recouvertes, malgré l'indication contraire de Kohl, et examinées au microscope. Dans les pédicelles fructifères dressés, le protoplasme est distribué d'une façon uniforme. Dans les pédicelles qui ont subi des flexions héliotropiques ou géotropiques, la masse principale du protoplasme s'est portée sur la face concave; la face convexe, au contraire, ne possède qu'un mince revêtement plasmique. Si on plasmolyse sur porte-objet des pédicelles fructifères de *Phycomyces* fortement incurvés, on observe ce fait remarquable que la membrane cellulaire est beaucop plus épaisse (souvent du double) à la face concave, dont le revêtement plasmique est plus considérable, que sur la face convexe. L'accumulation de plasma sur la face concave dans la région incurvée des pédicelles fructifères occasionne l'épaississement de membrane qu'on a constaté. Cet épaississement détermine une extensibilité moindre de la membrane cellulaire sur la face concave, alors que la membrane reste parfaitement dilatable sur la face convexe. La résistance qu'offre ainsi la membrane à la force de turgescence est moindre sur la face convexe de l'organe que sur sa face concave. La membrane va donc croître plus fortement en épaisseur sur la face con-

cave, et la face convexe, éprouver une plus forte croissance superficielle; la production des courbures sera donc aisée à expliquer (1).

Pour ce qui concerne les causes des mouvements provoqués des organes végétaux pluricellulaires, les flexions géotropiques, par exemple, il est vraisemblable, d'après ce qui vient d'être dit, que dans ce cas aussi, après que la nutation s'est produite, le protoplasme est réparti de manière différente dans les cellules de la face supérieure, d'une part, et dans celles de la face inférieure, d'autre part. Si on examine des sections transversales pratiquées dans la région incurvée d'un organe pluricellulaire, il arrive souvent que des différences de ce genre ne sont pas nettement accusées. Les nutations ne sont d'ordinaire complètes qu'après un temps relativement court, et le plasma ne pourra donc, le plus souvent, effectuer complètement les mouvements provoqués. La simple expérience qui va suivre donne des résultats particulièrement instructifs à cet égard.

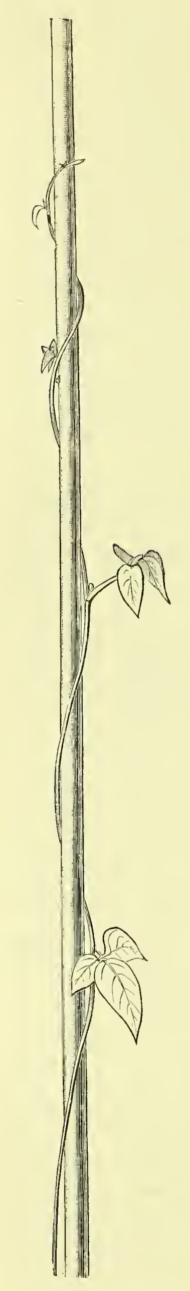
L'épicotyle d'un robuste *Phaseolus multiflorus* cultivé en pot est placé horizontalement. Autour de l'extrémité supérieure de l'épicotyle, on lie un fil de soie enroulé sur une poulie très mobile et assez fortement tendu, au moyen d'un contrepoids, pour empêcher l'épicotyle de subir aucune nutation géotropique sous l'influence de la pesanteur. Après 36 à 48 heures, on pratique des sections transversales dans la région flexible de l'épicotyle. A l'examen microscopique, on portera plus spécialement son attention sur le tissu cortical. Les cellules de l'écorce de la face supérieure ont un protoplasme abondant, leurs parois montrent un épaississement collenchymateux extraordinairement développé, et leur lumière est étroite. Les cellules corticales de la face inférieure possèdent peu de protoplasme, leurs parois sont minces et leur lumière est grande. La cause excitatrice (pesanteur) a donc provoqué ici des déplacements du protoplasme. Le plasma des cellules de la face inférieure de l'épicotyle placé horizontalement a émigré en grande partie dans les cellules de la face supérieure de l'organe, et ce phénomène, si le fil employé ne s'y était opposé, aurait pu produire une nutation géotropique. L'accumulation de protoplasme dans les cellules de la face supérieure de l'épicotyle a déterminé un fort épaississement des membranes de ces cellules, ainsi qu'une diminution de l'extensibilité des membranes cellulaires. Les membranes minces des cellules de la face inférieure restent au contraire très extensibles. Il en résulte que les cellules de la face inférieure pourront subir une dilatation considérable sous l'influence de la turgescence. Leurs membranes montrent une croissance superficielle active et, dans les conditions nor-

(1) Il convient, dans un institut botanique, d'avoir toujours des *Phycomyces* à sa disposition. On cultivera donc le champignon de la façon indiquée, on retirera du pain les plantes tout entières, on les dessèchera à l'air et on fera de nouvelles cultures à peu près toutes les 6 semaines, parce que les spores perdent la faculté de germer lorsqu'elles sont conservées plus longtemps.

males, celle-ci produira une flexion énergique de l'épicotyle vers le haut.

III. L'ENROULEMENT DES VRILLES ET DES PLANTES VOLUBILES.

181. Généralités sur l'enroulement des plantes volubiles.


Fig. 116. — Tige volubile de *Phaseolus multiflorus.*

Si nous examinons une tige de houblon enroulée autour d'un tuteur, nous observons que les tours de spire vont toujours en s'élevant de la droite vers la gauche. Le houblon est le type des plantes volubiles à droite (1). Nous remarquons également que les tiges et les pétioles du houblon sont pourvus d'organes accessoires, d'une forme particulière, servant de crochets ou de crampons, pour aider à soutenir les plantes. En enlevant des lambeaux d'épiderme du pétiole d'*Humulus*, par exemple, et en les examinant au microscope, nous constaterons que leur surface est recouverte d'émergences verruciformes. Chacune d'elles porte à son sommet un poil en navette constituant un excellent organe de fixation.

Quelques pots de fleurs, pas trop petits, remplis d'une bonne terre de jardin convenablement mouillée, reçoivent des graines gonflées de *Phaseolus multiflorus*. Il convient de placer plusieurs graines dans chaque pot, afin de pouvoir écarter plus tard les plantes trop grêles, et de ne laisser croître dans chaque pot qu'un exemplaire robuste. Quand le troisième entre-nœud commence à s'allonger, une longue tige de bois est placée dans le voisinage immédiat de la plante. Celle-ci s'enroule autour du support. Le haricot n'est pas comme le houblon une plante volubile à droite, mais une plante volubile à gauche. Les tours de l'hélice vont en s'élevant de la gauche vers la droite. La fig. 116 le montre clairement; elle laisse aussi apercevoir ce fait, dont il sera plus spécialement question dans le § 184, que les tours les plus âgés

(1) En botanique, comme en mécanique, on a l'habitude de désigner les deux positions opposées par *torsion à gauche* et *torsion à droite*.

de l'hélice sont plus étroits et plus élancés que les jeunes. Ces phénomènes sont nettement mis en évidence lorsque les supports employés ne sont pas trop gros. Pour les expériences à effectuer sur les *Phaseolus*, leur épaisseur ne doit pas dépasser quelques millimètres. L'observation de plantes volubiles embrassant des supports d'épaisseurs différentes ne manque d'ailleurs pas d'intérêt. J'ai provoqué, par exemple, l'enroulement de tiges de haricot sur des cordons et des fils de fer tendus d'un mm. de diamètre, ainsi que sur des supports de bois de 4, 16 et même 30 mm. de diamètre.

182. La circumnutation.

Pour étudier de plus près les phénomènes d'enroulement que présentent les plantes volubiles, il importe beaucoup d'examiner la circumnutation des tiges qui jouissent de la propriété de s'enrouler. Nous semons des graines de *Phaseolus multiflorus* dans des pots de fleurs, assez grands, remplis de terre de jardin. Le phénomène de la circumnutation ne s'observe point, ou peu nettement, sur les premiers entre-nœuds, mais bien sur les suivants. Les longs sommets des tiges sont penchés par leur propre poids, et si nous les observons plus attentivement, nous remarquons qu'ils ne sont pas immobiles, mais qu'ils sont animés d'un mouvement ininterrompu qui leur fait décrire un cercle. La vitesse de ce mouvement révolutif varie avec la température ; dans des conditions favorables, le sommet des plantes de *Phaseolus* décrit une révolution complète en 1 heure 1/2 à 2 heures. Ce phénomène de nutation tournante ou révolutive provient de ce que les différentes lignes longitudinales de la périphérie de la tige ont successivement une croissance en longueur plus intense que celles de la face opposée. Il en résulte que lorsque nous marquerons d'un trait à l'encre de Chine la face convexe d'une tige volubile inclinée, nous retrouverons plus tard ce trait sur la face concave de la tige, après que le sommet aura décrit un demi-cercle.

183. Les torsions libres.

On coupe des sommets de tiges de 20 à 30 cm. de longueur d'*Ipomœa purpurea* ou de *Phaseolus*, très robustes, croissant à l'extérieur le plus verticalement possible, et n'ayant encore rencontré aucun support. Après avoir plongé l'extrémité inférieure des matériaux d'étude dans un petit vase contenant de l'eau, on les place sous une grande cloche en verre ou dans un grand vase en verre dont l'ouverture est fermée au moyen d'un disque de carton. Afin que l'air qui enveloppe

les plantes reste très humide, on arrose avec de l'eau les parois du vase ou de la cloche. Dans ces conditions, les tiges continueront à croître et, après 2 à 3 jours, elles auront opéré quelques torsions libres (1). J'ai obtenu ce résultat dans des expériences effectuées sur des *Phaseolus* et des *Ipomœa purpurea*. Cette dernière plante convient particulièrement bien pour ce genre de recherches. J'ai vu se produire des torsions libres, que les plantes séjournassent dans l'obscurité ou qu'elles fussent exposées à la lumière. La figure ci-contre (fig. 117) représente une tige d'*Ipomæa* ayant subi des torsions libres. On remarquera (j'ai eu d'ailleurs l'occasion de le voir plus nettement encore dans d'autres cas) que les parties les plus inférieures de la tige tordue, par conséquent les plus âgées, sont plus élancées que les plus jeunes. C'est là un phénomène dont nous aurons plus tard à rechercher les causes.

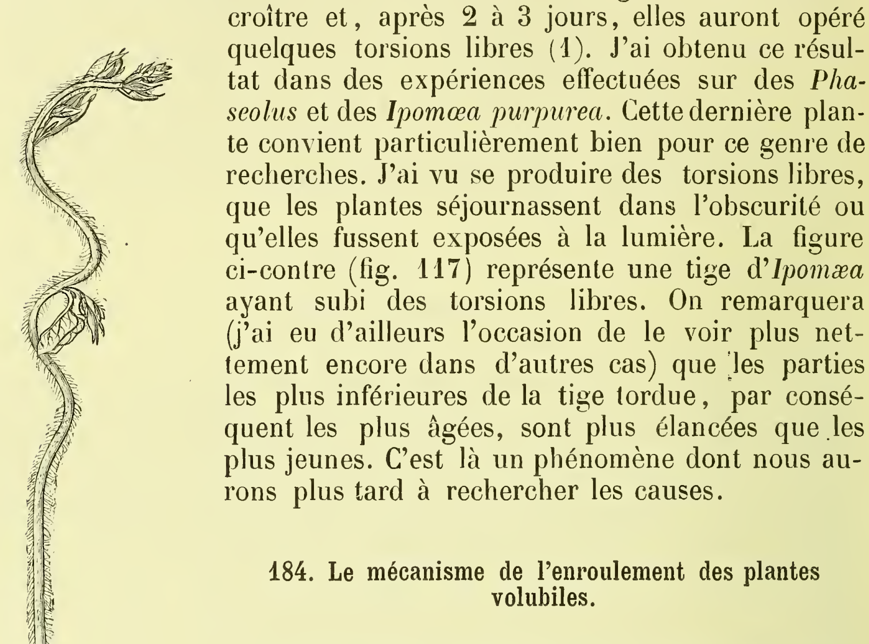


Fig. 117. — Tige d'*Ipomæa purpurea* montrant des torsions libres.

184. Le mécanisme de l'enroulement des plantes volubiles.

Il est évident que le sommet d'une tige volubile, en décrivant un cercle par sa nutation révolutive, peut facilement être amené à rencontrer un support convenable. La nutation continue à se manifester, mais on doit tenir compte alors, pour le développement et la forme des torsions qui se produisent, d'un second facteur agissant dans le sens de la verticale : le géotropisme négatif de la tige tordue. Il est facile de prouver que les tiges d'*Humulus* ou de *Phaseolus*, par exemple, possèdent un fort géotropisme négatif, en enfonçant dans le sable, de la façon indiquée dans le § 171, le sommet d'une tige de ces plantes. La tige ne tardera pas à montrer une forte courbure vers le haut.

Pour comprendre les phénomènes qui peuvent être observés pendant la torsion, il importe donc avant tout d'étudier la nutation révolutive des plantes volubiles ainsi que leur géotropisme négatif. Ces deux forces ont pour effet d'enrouler la tige volubile en hélice autour de son support, et elles suffisent pour expliquer pourquoi les tours supérieurs sont lâches et relativement larges, alors que les inférieurs sont plus élancés, phénomène que nous avons tout aussi bien observé dans les torsions libres que dans les torsions effectuées autour d'un support.

(1) Voy. Sachs, *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie*, 1882, p. 821.

La forme des tours supérieurs est déterminée surtout par la nutation révolutive, mais le géotropisme négatif exerce une action prépondérante sur la forme des tours inférieurs. Il faudra aussi tenir compte de ce fait que les plantes volubiles continueront encore longtemps de s'accroître, après que les torsions se seront produites ; elles se redresseront donc géotropiquement sous l'action de la pesanteur. Si elles s'enroulent autour d'un support, la croissance en ligne droite des portions âgées de la tige sera empêchée par le support. Les tiges tordues embrassent étroitement leur support et l'angle d'inclinaison de l'axe caulinaire devient finalement d'autant plus petit que le support est plus mince. Autour des gros supports, les portions âgées des tiges, au contraire, s'appliquent les premières ; le redressement des entre-nœuds est bientôt empêché et les tours formés paraissent alors relativement lâches.

Fait qui paraîtra peut-être remarquable à première vue, à l'air libre, dans des conditions tout à fait normales, les torsions libres des sommets penchés des tiges volubiles ne se produisent que rarement sous leur forme typique, alors qu'elles se forment facilement, comme nous l'avons vu, dans les morceaux de tiges coupées. Toutefois, en y réfléchissant bien, ce fait devient aisément compréhensible. La croissance est certainement beaucoup affaiblie dans les tiges coupées. Des torsions libres peuvent alors s'opérer aussi sous l'action combinée de la croissance et de la nutation révolutive, mais le redressement des entre-nœuds sous l'influence du géotropisme ne pourra s'exercer que d'une façon incomplète. Dans les conditions naturelles, les sommets des tiges volubiles, doués d'une croissance active et dépassant les supports, obéissent d'ordinaire d'une façon si complète à l'influence de la gravitation, que leurs entre-nœuds s'allongent souvent presque en ligne droite et ne peuvent ainsi former de torsions libres permanentes.

Quelques expériences nous permettront d'examiner de plus près le mécanisme de l'enroulement des plantes volubiles.

Un support de 30 mm. de diamètre est placé à côté d'une jeune plante fort robuste de *Phaseolus multiflorus* croissant dans un pot de fleurs ou, librement, dans le sol. Si l'on retire le support, après qu'il s'est formé autour de lui quelques tours, pour le remplacer par un plus mince, de quelques mm. seulement de diamètre, les torsions ne s'appliqueront naturellement pas au début contre le support mince. On observera que la portion supérieure de la tige de haricot qui continue de s'accroître forme de nouveaux tours de torsion. Mais, ce qu'il y a de plus intéressant, c'est que les plus jeunes tours déjà formés autour du gros support deviennent plus élancés après un jour ou deux et embrassent étroitement le mince support. Ce phénomène provient de la persistance de la croissance dans l'organe considéré et de la sensibilité géotropique qui en résulte. Les tours de torsions âgés déjà formés autour du gros support restent, au contraire, relativement lâches ;

ils ne subissent plus aucune modification, parce que la croissance est déjà éteinte dans les entre-nœuds âgés.

On retourne un exemplaire robuste de *Phaseolus*, cultivé en pot, ayant formé quelques tours de torsion autour d'un support, c'est-à-dire qu'on tourne son sommet vers le bas, après avoir placé quelques traverses de bois sur le pot pour empêcher la terre de s'en échapper. Les portions jeunes de la tige de haricot, dont la croissance s'effectue encore activement, se déroulent aussitôt du support, et le sommet de la tige se redresse. Pour l'intelligence de ce fait, il faut admettre que chaque zone transversale, en voie de croissance, de la tige de haricot possédait encore la tendance de croître suivant une spirale ascendante à gauche sous l'action simultanée du géotropisme et de la nutation tournante. Chez une plante de haricot qui a été retournée, la face concave de la tige, regardant le support, devient convexe; ce qui produit le déroulement des parties des entre-nœuds encore en voie de croissance.

L'expérience qui va suivre est très instructive. Le bourgeon terminal d'une jeune plante de haricot, cultivée dans un pot de fleurs et ayant déjà formé quelques entre-nœuds, est lié à un mince fil enroulé sur une poulie très mobile, placée verticalement au-dessus de la plante. A l'extrémité libre du fil est suspendu un petit contre-poids (dans mes expériences, j'ai employé 1 gr.) qui est juste suffisant pour empêcher la tige de haricot de s'affaisser. Après un jour ou deux, le sommet de la plante aura formé quelques torsions libres, qui disparaitront cependant peu à peu, à mesure que la tige s'accroîtra par son sommet, car le géotropisme, comme aussi en d'autres circonstances, provoquera finalement un allongement vertical des entre-nœuds. Si, avant l'expérience, on a marqué à l'encre de Chine de fins traits peu écartés les uns des autres sur une face longitudinale de la tige, on remarquera que ces points ne se trouveront plus en ligne droite lorsque les torsions libres formées d'abord se seront étirées en ligne droite, mais qu'ils seront disposés sur une ligne spirale s'élevant vers la gauche. Notre plante aura donc subi une torsion homodrome, phénomène que l'on observe très fréquemment sur les tiges volubiles. La formation de ces torsions est très étroitement liée avec la production des torsions libres dans l'objet soumis à l'expérimentation. Quand les torsions disparaissent, par suite de l'allongement vertical de la tige, elles se transforment en une torsion homodrome, c'est-à-dire en une torsion qui s'effectue dans le même sens que l'enroulement de la plante (1).

(1) Les travaux les plus récents sur les plantes volubiles sont, notamment : H. de Vries, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. I; Schwendener, *Monatsberichte d. Berliner Akademie,* 1881, décembre; Ambronn, *Berichte d. sächsischen Gesellschaft d. Wissenschaften*; Wortmann, *Botan. Zeitung,* 1886. Les données que j'ai recueillies dans l'étude des phénomènes d'enroulement des plantes volubiles sont en concordance, dans tous leurs points essentiels, avec ceux de Sachs et de Wortmann.

185. Expériences sur la vrille des cucurbitacées.

Un grand nombre de végétaux, appartenant à des familles très différentes, sont pourvus de vrilles. Ces organes filamenteux permettent aux plantes de grimper. Ils peuvent se fixer à des supports et empêcher ainsi les végétaux de s'affaisser.

Pour se rendre compte des propriétés remarquables des vrilles, il est très commode d'employer, comme matériaux d'étude, certaines cucurbitacées, surtout le *Cyclanthera explodens* et le *Sicyos angulatus*. La première de ces plantes sera cultivée dans des pots à fleurs, assez grands, la dernière en pleine terre. Ces deux plantes doivent être issues de graines. Lorsque les plantes auront atteint une certaine hauteur, il sera nécessaire de leur fournir des supports pour la fixation de leurs vrilles.

Si on examine un individu de *Cyclanthera explodens* vigoureusement constitué, on remarque d'abord que les vrilles, libres, étendues en ligne droite, sont continuellement en mouvement. Elles décrivent un cercle dans l'espace et ce phénomène provient uniquement de la nutation révolutive de la tige portant les vrilles. Cette forme de nutation a déjà été examinée d'une façon spéciale, lorsqu'il s'est agi de l'enroulement des plantes volubiles; il nous suffira ici de constater qu'elle provient d'un mode de croissance particulier de la tige. J'ai pu observer qu'une vrille de *Cyclanthera* décrit un cercle complet en une heure sous une haute température estivale (supérieure à 20° C.). Mais, dans certaines plantes, ce ne sont point seulement les tiges portant les vrilles qui exécutent des nutations révolutives, mais encore les vrilles elles-mêmes. Ces derniers mouvements peuvent être mis en évidence, quand on empêche les nutations des tiges en les fixant à un support aux points d'insertions des vrilles. La signification biologique des nutations est d'une haute importance. Les vrilles, en voie de croissance, promenées dans toutes les directions de l'espace pourront facilement venir en contact avec des supports convenables qu'elles pourront accrocher.

Les vrilles de *Sycios angulatus* conviennent particulièrement bien pour une étude approfondie de la sensibilité des vrilles. Elles m'ont permis d'effectuer un grand nombre d'expériences. A l'état jeune, les diverses branches de ces vrilles sont enroulées en spirale. Mais lorsqu'elles se seront étendues en ligne droite, elles atteindront un haut degré de sensibilité. Il est clair que cette sensibilité est moindre sous une basse température que par un temps chaud. En prenant délicatement entre les doigts, pendant une chaude journée, une branche de vrille étendue en ligne droite, elle s'incurve aussitôt d'une façon considérable, et le mouvement produit est si actif qu'on peut le suivre direc-

tement des yeux. La fig. 118 représente une vrille de *Sycios angulatus*. La branche *a* n'a pas subi d'excitation ; elle est, par conséquent, encore étendue en ligne droite. Par suite d'une faible excitation, la branche *b* de la vrille n'a subi qu'une flexion insignifiante, tandis que la partie *c*, qui a été fortement impressionnée, a été aussi fortement tordue. Nous nous occuperons plus loin de la branche *d*. Si on a obligé une vrille de *Sycios* à s'infléchir, en lui faisant toucher un corps solide, et qu'on abandonne ensuite la vrille à elle-même, elle s'étend de nouveau complètement en ligne droite et redevient sensible au contact. Sous une haute température estivale, l'extension en ligne droite des vrilles de *Sycios*

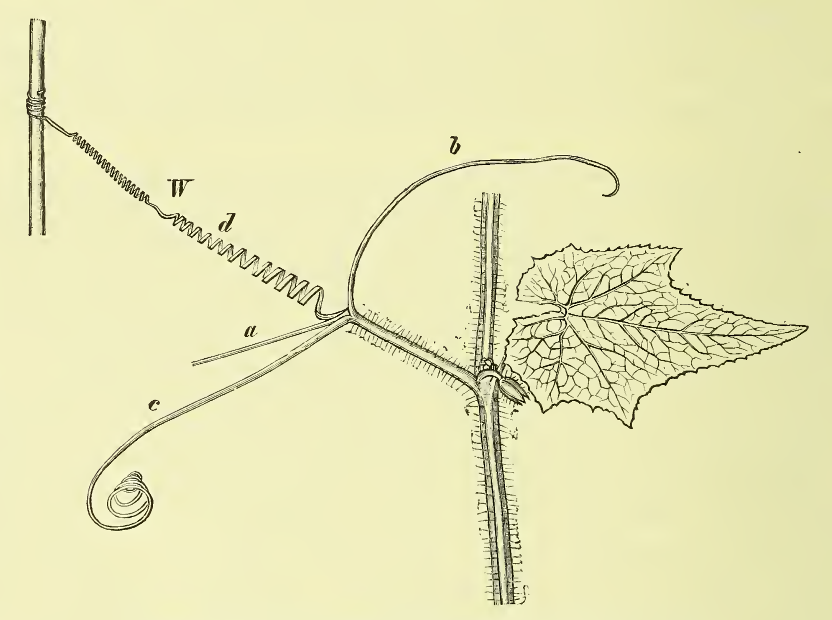


Fig. 118. — Portion de tige de *Sicyos angulatus* avec une vrille.

s'effectue relativement vite. J'ai pu observer aussi, dans des expériences sur les vrilles de *Cyclanthera*, que des vrilles, fortement recourbées à la suite d'une excitation, s'étaient déjà étendues après une heure, sous une température de 22° C. environ, et avaient regagné leur sensibilité.

Quand une branche d'une vrille de *Sycios* vient en contact en différents points avec un mince support de bois, il est facile de voir que la sensibilité de l'organe est la plus grande dans son premier tiers, et qu'elle va en décroissant considérablement de cette partie vers la base. On peut constater de plus qu'un côté latéral est sensible au contact dans la zone sensible. C'est, en effet, cette face seule des vrilles de *Sicyos* qui soit sensible à la pression, et elle forme la convexité, quand

les branches de la vrille sont encore très jeunes et encore enroulées en spirale. Remarquons, d'ailleurs, qu'il existe aussi des plantes dont les vrilles ne sont pas seulement sensibles sur une face, mais sur toutes. Pour s'assurer du haut degré de sensibilité des vrilles de *Sycios* ou de *Cyclanthera*, on place délicatement sur le sommet des vrilles quelques petits fragments de fils d'ouate ou des morceaux de papier pesant quelques milligrammes; des flexions nettement accusées ne tarderont pas à se produire. D'autres vrilles, celles de *Vitis*, par exemple, dont nous aurons à nous occuper plus tard, sont beaucoup moins sensibles; chez ces dernières, des corps pesant quelques milligrammes ne provoquent généralement pas de courbure.

Un fait d'une importance particulière et facile à démontrer expérimentalement, c'est que les vrilles ne sont pas simplement sensibles à la pression, au choc ou au contact, mais qu'elles ne sont sensibles qu'à une forme déterminée de contact (1). Si on préserve de tout contact avec des corps solides (les vrilles d'une tige de *Sicyos* en écartant rapidement et délicatement les vrilles de ces corps), on évitera l'action excitatrice du contact avec un corps solide, et les vrilles recevront des flexions dues aux secousses d'ébranlement. A l'aide d'un filet d'eau, fourni par une pissette, par exemple, et dirigé sur la face sensible des vrilles de *Sycios*, on ne parviendra pas non plus à les exciter. Les feuilles excitables de *Mimosa pudica*, comme j'ai pu m'en assurer, se comportent d'une façon tout à fait différente sous l'action d'un filet d'eau, comme aussi sous celle d'une simple secousse. Ces feuilles sont sensibles à n'importe quelle espèce de secousse mécanique, et quand on dirige, par exemple, un filet d'eau sur des feuilles étalées, elles montrent très rapidement le phénomène de reploiement bien connu. Les vrilles ne sont pas excitées par n'importe quelle action mécanique; elles ne réagissent, au contraire, que lorsque certains points, sur une étendue restreinte de leur zone sensible, reçoivent des secousses ou des tractions simultanées ou se succédant d'une façon suffisamment rapide. Il y a donc lieu d'établir une distinction entre l'excitation due à une secousse, à laquelle les feuilles de *Mimosa*, par exemple, sont sensibles, et l'excitation due au contact qui détermine les mouvements des vrilles.

Si on place un support, un fil de fer ou une mince tige de bois, par exemple, dans le voisinage des vrilles de *Cucurbita*, de *Sicyos* ou de *Cyclanthera*, les organes excitables ne tardent pas à toucher le support, par suite des mouvements de circumnutation dont il a déjà été question. Le contact détermine une excitation, et les vrilles se recourbent. A la suite de cette flexion, d'autres points de la vrille viennent en contact avec le support, de nouvelles excitations se manifestent et l'enroulement autour du support se produit plus ou moins vite (voy. fig. 118, la branche *d* de la vrille). Quand une vrille a atteint un

(1) Voy. Pfeffer, *Untersuchungen aus d. botanischen Institut zu Tübingen*, v. I, p. 483.

support, la portion de la vrille située entre le support et la plante éprouve très rapidement des modifications remarquables. Cette portion de la vrille peut, comme la fig. 118 le représente, s'enrouler en tire-bouchon, et, pour des raisons purement mécaniques, il se produit des points de rebroussement entre les hélices de sens contraire (voy. fig. 118, en W.) J'ai pu observer, par exemple, qu'une vrille de *Sicyos* qui avait accroché un support le 1[er] juillet, à 4 heures de l'après-midi, s'était déjà enroulée en hélice le lendemain matin dans la partie tendue entre le support et la plante, et que des points de rebroussement s'étaient déjà formés aussi. J'ai pu voir, en outre, qu'une vrille de *Cyclanthera*, accrochée à un support, sous une haute température estivale, montrait déjà au bout de 8 heures une contraction en hélice de la portion tendue entre le support et la plante. Les premières torsions de la vrille se produisaient dans le voisinage immédiat du support. Les torsions en hélice s'effectuent du sommet vers la base dans les portions de vrilles librement tendues. Les vrilles de nos cucurbitacées qui n'ont accroché aucun support, présentent des phénomènes d'enroulement analogues à ceux des organes fixés. Il est facile cependant de s'assurer qu'ils se produisent rapidement dans les vrilles attachées et qu'ils n'apparaissent que tardivement dans les vrilles libres. Ces faits établissent indubitablement que l'enroulement des vrilles fixées provient de l'excitation du contact auquel les vrilles ont été soumises. La propagation de l'excitation doit jouer un rôle important, sinon les torsions en hélice ne se produiraient pas dans les parties tendues dans le vide et non touchées directement.

Pour ce qui concerne le mécanisme du mouvement des vrilles, il est certain que chaque fois qu'une vrille a été excitée par un contact et que des courbures se sont produites, la dilatation produite par la turgescence dans les cellules de la face concave de l'organe est moindre que celle qui a lieu dans les cellules de la face convexe. C'est cette différence de dilatation qui se manifeste en premier lieu. Elle est provoquée par l'excitation du contact et elle sera la cause de la différence de croissance des cellules sur les faces de la vrille devenant respectivement concave et convexe. Les cellules de cette dernière croissent plus activement que celles de la première. Il en résulte que les flexions produites par l'excitation du contact seront ainsi fixées. A l'aide de la méthode plasmolytique (voy. § 56), on peut montrer la part que prend, d'un côté, la turgescence des cellules et, d'un autre, leur croissance, dans la formation des courbures des vrilles. Il est instructif d'effectuer des expériences de ce genre. On procède alors de manière à exciter les vrilles plus ou moins fortement; puis on les coupe, lorsqu'elles ont subi des flexions plus ou moins considérables, pour les plonger dans une dissolution à 20 % de sel marin. Si les vrilles incurvées s'étendent de nouveau en ligne droite après la plasmolyse, c'est que la flexion, produite par l'excitation due au contact, n'a été provoquée que par une diffé-

rence dans la dilatation des cellules due à la turgescence sur les faces concave et convexe des vrilles. Si, au contraire, on n'obtient pas d'extension en ligne droite à la suite de la plasmolyse, cela prouve que la croissance participe à la production des torsions. J'ai excité des vrilles de *Sicyos*, que j'ai soumises à la plasmolyse après qu'elles avaient produit 1/4, 3/4, 1 3/4 torsion. Les deux premières vrilles ne tardaient pas à s'étendre complètement en ligne droite; dans les autres, 1/4 de torsion persistait à la suite de l'immersion dans la dissolution saline (1).

Les vrilles des cucurbitacées ne sont très excitables qu'à leur sommet, comme nous avons pu le voir pour les vrilles de *Sicyos*, et leur sensibilité va graduellement en diminuant vers leur base. Ce fait est sans aucun doute en relation avec cet autre, dont j'ai pu m'assurer de l'exactitude, d'après les données fournies par O. Müller (2), que la base des vrilles des cucurbitacées possède une structure rayonnée et que ces vrilles ont une structure dorsiventrale d'autant plus accusée que nous nous rapprochons davantage du sommet très excitable de la vrille. Nous pratiquerons, par exemple, toute une série de coupes dans une vrille de *Bryonia dioica*. A sa base, la vrille a une structure complètement rayonnée ou à peu près. Nous apercevons le faisceau libéro-ligneux distribué régulièrement dans la moelle, un anneau fermé de sclérenchyme, dont les éléments peuvent ne pas encore être lignifiés, puis un tissu vert qui n'atteint l'épiderme qu'à de certains endroits, parce qu'il existe un collenchyme développé.

En examinant des coupes pratiquées au milieu et dans la partie supérieure des vrilles de *Bryonia*, on remarque nettement la structure dorsiventrale de l'organe. Les faisceaux libéro-ligneux sont rassemblés dans le tissu fondamental à la face inférieure de la vrille; le sclérenchyme ne forme plus d'anneau, mais un arc sur la face inférieure de la vrille. Sur cette face, le collenchyme est particulièrement développé aussi, tandis que le parenchyme vert constitue le principal tissu de la face supérieure de la vrille.

186. Expériences sur les vrilles d'ampélidées.

Les vrilles ramifiées de *Vitis vinifera* sont loin d'être aussi sensibles que les vrilles de *Sicyos* et de *Cyclanthera* dont nous nous sommes occupé dans le § 185. Dans des conditions favorables, ces dernières réagissent presque instantanément et très énergiquement sous l'excitation du contact. Les vrilles de *Vitis*, elles, ne se courbent que lentement, même après une forte excitation. J'ai pu constater qu'une branche d'une vrille de *Vitis*, passée plusieurs fois entre les doigts sous une haute

(1) Voy. H. de Vries, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. 1, p. 302, et *Landwirthschaftliche Jahrbücher*, vol. 9, p. 511.
(2) Voy. O. Müller, in *Beiträge zur Biologie der Pflanzen* de Cohn, vol. 4, p. 120.

température estivale, se montrait déjà nettement incurvée au bout de 20 minutes. Dans tous les autres cas, surtout lorsque la température n'est pas élevée, l'excitation ne s'observe nettement qu'après une ou plusieurs heures. Lorsqu'une vrille de *Vitis* a été excitée passagèrement et a subi ensuite une flexion, elle s'étend lentement de nouveau en ligne droite et redevient excitable. Une vrille de *Vitis* peut aussi s'enrouler facilement autour d'un mince support de bois placé dans son voisinage. La portion de la vrille, tendue entre le support et la plante, s'en-

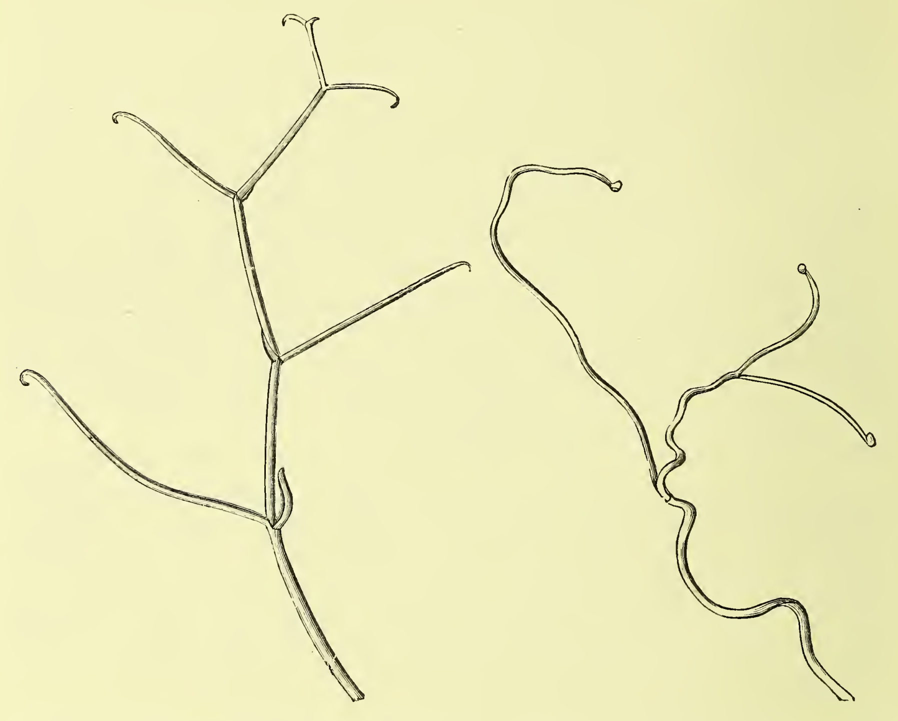


Fig. 119. — Vrille d'*Ampelopsis quinquefolia* non fixée.

Fig. 120. — Vrille d'*Ampelopsis quinquefolia* avec pelotes adhésives.

roule en hélice, mais cela s'effectue lentement, souvent après quelques jours seulement.

Les vrilles d'*Ampelopsis quinquefolia* (vigne-vierge) se comportent d'une façon toute particulière. La fig. 119 nous montre une vrille de cette plante n'ayant pas encore trouvé à se fixer. Les branches des vrilles ne peuvent subir de torsion que chez certains individus; elles ne peuvent pas d'ordinaire s'accrocher de la même façon qu'un grand nombre de vrilles de cucurbitacées ou que les vrilles de *Vitis*. Mais les branches des vrilles peuvent former des pelotes adhésives à leur extrémité libre. Ces extrémités viennent-elles en contact avec le mur ou

la charpente contre lesquels la plante effectue sa croissance, elles se gonflent immédiatement, par suite de l'excitation du contact, pour former les pelotes adhésives. Les cellules de ces dernières laissent échapper une sécrétion gommeuse qui permet la fixation des extrémités des vrilles. La fig. 120 montre une vrille d'*Ampelopsis* détachée d'une paroi en bois, dès que les extrémités libres de ses branches avaient commencé à former leurs pelotes adhésives. Quand la vrille d'*Ampelopsis* a été fixée de la façon qui vient d'être indiquée, il se produit des enroulements en hélice dans la portion de la vrille qui s'étend du point d'attache à la plante. Comme dans les vrilles de *Sicyos*, de *Vitis*, etc., la production de ces enroulements est le résultat d'une propagation de l'excitation, et elle se trouve en relation étroite avec l'excitation du contact qui détermine la formation des pelotes adhésives. Les vrilles d'*Ampelopsis* qui n'ont point trouvé à se fixer, ne se contractent pas en hélice. Après une semaine ou deux, ces vrilles se fanent et tombent. L'excitation du contact qui amène la formation de pelotes adhésives aux extrémités des branches des vrilles ne provoque pas seulement la formation des enroulements en hélice; mais, par suite de la propagation de l'excitation, elle détermine encore d'autres modifications dans les portions des vrilles tendues dans le vide.

L'examen d'une coupe transversale pratiquée dans une branche de vrille d'*Ampelopsis* qui n'est pas encore fixée, montre une moelle à grandes cellules, entourée d'un cercle de faisceaux libéro-ligneux. De grands rayons médullaires établissent une communication entre la moelle et le tissu vert. Immédiatement sous l'épiderme, on remarque un collenchyme. Quand les vrilles d'*Ampelopsis* se sont fixées, leur structure subit des modifications considérables lors de la formation des enroulements en hélice. Dans les rayons médullaires apparaît un cambium interfasciculaire. Le bois des faisceaux, considérablement augmenté, va former un anneau fermé. Les vrilles, ayant beaucoup gagné en solidité et en résistance, deviendront seulement alors d'une réelle utilité pour les plantes (1).

IV. LA DORSIVENTRALITÉ, LA POLARITÉ ET L'ANISOTROPIE DES ORGANES DES PLANTES. LES PHÉNOMÈNES DE CORRÉLATION DANS LE RÈGNE VÉGÉTAL.

187. La dorsiventralité des organes végétaux.

Beaucoup d'organes végétaux, surtout les plagiotropes (beaucoup de

(1) Voy. DARWIN, *les Mouvements et les habitudes des plantes grimpantes,* 1887, et v. LENGERKEN, *Botan. Zeitung*, 1885, nº 22-26.

feuilles, par exemple), possèdent une structure nettement dorsiventrale. Mais il existe aussi des tiges caractérisées par leur dorsiventralité au point de vue morphologique et physiologique, et comme, pour certaines d'entre elles, les causes mêmes de cette dorsiventralité sont connues, on pourra la provoquer artificiellement. Quelques observations nous permettront de mieux nous rendre compte de ces faits intéressants.

Quelques graines de *Tropæolum majus* sont déposées en été dans des pots de fleurs contenant une bonne terre de jardin. Ces vases sont placés devant une fenêtre et reçoivent une lumière très vive. Les épicotyles des jeunes germinations en voie de développement (nous ne pourrons en cultiver qu'un petit nombre dans chacun des pots, afin qu'elles ne s'ombragent pas réciproquement) se courbent d'abord dans une direction opposée à celle des rayons lumineux; elles sont donc douées d'héliotropisme positif. Si on ne soustrait pas les plantes à la vive lumière qu'elles reçoivent par la fenêtre, l'héliotropisme positif des épicotyles des germinations se transforme en héliotropisme négatif. Ils se détournent de la source lumineuse, de même que les autres portions caulinaires récemment formées. Leur surface éclairée (face supérieure) deviendra donc convexe. L'influence d'une lumière intense provoque, par conséquent, une dorsiventralité dans les portions caulinaires du *Tropæolum;* toutefois celle-ci n'est pas morphologique, mais physiologique, car les portions caulinaires de nos plantes conservent toujours, tant au point de vue de leur structure anatomique qu'à celui de la position des feuilles qu'elles forment, une symétrie multilatérale ou rayonnée. Il importe de remarquer que la face éclairée ou supérieure de l'axe épicotylé du *Tropæolum* ne devient pas progressivement convexe quand la plante est exposée à une faible lumière; l'héliotropisme négatif de l'organe ne se manifeste pas alors, de sorte que c'est uniquement en vertu de son héliotropisme positif qu'il se courbe vers les rayons lumineux. Toute face latérale de la tige de *Tropæolum* peut d'ailleurs devenir la face supérieure; il suffit qu'elle soit la plus éclairée (1).

Un cas remarquable d'induction locale de dorsiventralité nous est fourni par des expériences sur les pousses à croissance horizontale du *Thuja occidentalis* (2). Sur ces pousses se trouvent quatre rangées de feuilles : une rangée à la face supérieure et à la face inférieure (feuilles faciales); une rangée aux deux flancs (feuilles marginales). Les pousses de *Thuja*, dont la croissance s'est effectuée dans les conditions ordinaires, ont une structure nettement dorsiventrale, comme il est facile de s'en assurer en examinant au microscope des sections transversales minces. Leur mésophylle, par exemple, palissadique à la face supérieure, est constitué à la face inférieure par des cellules à peu près isodiamétriques (voy. Frank, *Jahrbücher* de Pringsheim, vol. 9, pl. 16, fig. 4). Si, au

(1) Voy. Sachs, *Arbeiten des botanischen Instituts in Würzburg*, vol. 2, p. 271.
(2) Voy. Frank, in *Jahrbücher de* Pringsheim, vol. 9, p. 147.

début du printemps, avant le réveil de la végétation (mes expériences étaient entreprises au commencement de mars), on retourne une pousse de *Thuja*, et qu'on la fixe, sans la séparer de la plante-mère, de manière que sa face morphologique inférieure soit dirigée vers le haut, le sommet de la pousse se développe tout à fait normalement pendant le printemps, et présente comme d'habitude une structure dorsiventrale. La face de la pousse de *Thuja*, qui serait devenue la face morphologique inférieure sans le retournement effectué, devient maintenant la face supérieure, comme le montre nettement, par exemple, la présence d'un parenchyme palissadique, tandis que la face, dirigée vers le sol, de la pousse retournée prend le caractère normal d'une face inférieure. La dorsiventralité de la pousse de *Thuja* est donc la conséquence d'une induction locale. Elle est provoquée par l'action de la lumière, et non, comme Frank l'a prétendu, par l'action de la pesanteur.

Si les pousses du *Taxus baccata*, pourvues de feuilles plus ou moins régulièrement réparties sur deux rangées, sont tournées de 180° au moment de l'épanouissement des bourgeons, en mai par conséquent, et fixées dans cette position par des cordons sans être séparées de la plante-mère, on remarque que les jeunes jets (pas les plus âgés, déjà développés) sont revenus par une rotation à leur position primitive après quelques jours. Si on tourne de 180° les pousses de *Taxus* avant l'épanouissement des bourgeons (mes expériences commençaient à la mi-mars) et qu'on les fixe dans cette position, il y aura induction, sous l'influence de la pesanteur notamment, d'une dorsiventralité en rapport avec la nouvelle position des pousses en voie de développement; de sorte que le jet annuel, après une nouvelle inversion, tendra à regagner l'orientation prise pendant l'épanouissement. Les pousses de *Taxus* développées dans les conditions ordinaires diffèrent de celles qui proviennent de bourgeons se trouvant sur des pousses plus âgées, tournées de 180° au début du printemps. Chez les premières, la longueur des aiguilles diminue de la face inférieure à la face supérieure; alors que chez les dernières, les plus longues aiguilles appartiennent à la face supérieure (1).

188. La polarité des organes végétaux.

Un grand nombre d'organes végétaux, surtout beaucoup de tiges, montrent une polarité nettement accusée. Les détails d'organisation et le rôle physiologique aussi établissent directement une distinction entre la base et le sommet de ces organes. Nous effectuerons d'abord quelques expériences qui nous permettront de nous faire une idée exacte de ce phénomène remarquable.

(1) Voy. Frank, *Die natürl. wagerechte Richtung von Pflanzentheilen*, 1870, p.24.

Dans un vase cylindrique de verre, on verse une petite quantité d'eau, de manière que le fond du vase soit recouvert d'une couche d'eau d'1 cm. environ de hauteur. La paroi intérieure du vase sera entièrement recouverte de bandes mouillées de papier à filtrer, dont les extrémités inférieures seront plongées dans l'eau. L'ouverture du vase sera fermée au moyen d'une lame de verre. L'expérience peut être faite à des époques très différentes de l'année. Examinons d'abord les résultats que l'on obtient en expérimentant sur des branches de saule au mois de février ou de mars. Nous suspendrons donc alors dans le vase, au moyen d'un cordon, un morceau de branche de saule (de *Salix viminalis* ou de *S. fragilis*), de 200 mm. environ de longueur et 12 mm. de diamètre, couvert sur toute sa surface de bourgeons ayant autant que possible le même développement (voy. fig. 121), de manière que son sommet morphologique soit dirigé vers le haut et sa partie basilaire vers le bas, sans cependant que cette dernière plonge dans le liquide. Les bourgeons de la branche et les racines cachées sous son écorce ne tarderont pas à poussser. Après 3 à 4 semaines de séjour dans l'obscurité, sous une température suffisamment élevée (20° C. environ), le morceau de branche de saule aura formé des racines et des jets vigoureux. Mais nous constaterons que les jets ne sont formés que par les bourgeons du sommet du morceau de branche, et que les racines ont soulevé une portion considérable de la surface du morceau de branche. Un grand nombre d'observations m'ont toujours permis, comme aussi à Vöchting (1), de constater plus ou moins nettement que les racines augmentent en nombre et en grandeur vers la base morphologique du morceau de tige (voy. aussi la fig. 88). Si nous coupons en juillet un morceau d'une longueur de 200 mm. environ de la portion moyenne d'une branche robuste de saule de l'année, dont nous avons enlevé les feuilles, et que nous le suspendions dans l'air humide d'un vase cylindrique de verre, des jets se développeront à l'extrémité supérieure de l'objet soumis à l'expérimentation. Quant à la production de racines, nous observerons qu'elle est limitée, chez les jeunes branches, à la base morphologique; ce qui n'a pas lieu dans les branches âgées. Suspendons encore dans des vases cylindriques de verre, en mars ou en juillet, des morceaux de branches de saule, jeunes ou âgées, de telle sorte que leur sommet morphologique soit tourné vers le bas et que leur base morphologique soit dirigée vers le haut. Nous remarquerons de nouveau la formation de jets au sommet, et de racines, particulière-

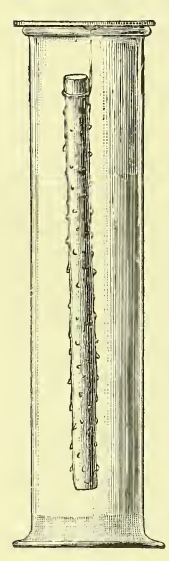


Fig. 121. — Vase cylindrique en verre, dans lequel on a suspendu un morceau de branche de saule en voie de bourgeonnement.

(1) Voy. Vöchting, *Ueber Organbildung im Pflanzenreich*, 1878.

ment nombreuses et vigoureuses, à la base morphologique. Ces expériences, sur des morceaux de branches retournés nous prouvent que l'action de la pesanteur ne peut pas être la cause immédiate des phénomènes constatés pendant le développement des jets et des racines.

Il est certain que la polarité des organes végétaux, c'est-à-dire que l'opposition de leur base et de leur sommet, ne provient pas de forces vitales mystérieuses, et qu'elle est due à des forces externes. Nous avons tout lieu de supposer que cette polarité est sous la dépendance de la pesanteur, surtout au début, et nous pourrons émettre l'hypothèse que nous allons exposer sur les questions qui se rattachent à ce sujet. Si la gravitation agit toujours dans la même direction sur les végétaux et à travers une quantité innombrable de générations, il pourra résulter de la somme de ces actions une propriété héréditaire, que nous pouvons désigner sous le nom de polarité. Cette dernière doit donc être considérée comme un phénomène d'induction devenu inhérent ou stable, amené par la pesanteur et manifestant son action au delà de la vie individuelle. Si l'on se place à ce point de vue, il sera facile aussi de concevoir que la pesanteur ne peut exercer aucune influence directe sensible sur le développement de bourgeons et de racines par les organes végétaux qui accusent une polarité (1).

Dans certaines conditions, la gravitation exerce cependant encore une action visible sur ces derniers, comme il est facile de s'en assurer au moyen d'une expérience que j'ai effectuée de la manière suivante : Une caisse assez grande en zinc était à demi remplie d'eau. A la surface du liquide, on déposait horizontalement une série de morceaux de branches de saule de 200 mm. de longueur et 12 mm. de diamètre, ce qui est facile à obtenir en les soutenant à leurs extrémités par des supports convenables émergeant du liquide. Le vase en zinc recevait un couvercle qui ne le fermait pas hermétiquement, et les matériaux d'étude se trouvaient dans l'obscurité. Les expériences effectuées en mars et en avril montrèrent que les bourgeons se développaient principalement au sommet morphologique des morceaux de branches de saule, tandis que leur base formait surtout des racines. L'orientation spéciale des jets et des racines dans l'espace était particulièrement significative. Les premiers se formaient surtout à la face supérieure des branches placées horizontalement; et les derniers, à leur face inférieure : résultat dû, sans aucun doute, à l'action de la pesanteur. Dans des expériences de ce genre, il faudra toujours opérer sur un grand nombre d'objets placés les uns à côté des autres, à cause des variations individuelles que pourraient présenter les morceaux de branches.

Remarquons encore, incidemment, que la lumière exerce, comme Vöchting l'a spécialement démontré, une influence considérable sur

(1) Toutes les pousses ne possèdent pas une polarité aussi prononcée que celle des branches de saule et cette polarité moindre doit être accessible aussi à une induction locale. Voy. Sachs, *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie.*

la formation de racines par les branches de saule. On suspend des morceaux de branches de saule, de la façon connue, dans des vases cylindriques. Un des vases est placé sous un récipient noir, les autres sont exposés à la lumière diffuse. On observe que l'écorce des branches laisse échapper moins de racines à la lumière qu'à l'obscurité, et que le développement des racines s'effectue aussi plus lentement à la lumière qu'à l'obscurité.

On peut constater dans beaucoup d'organes végétaux une polarité aussi prononcée que celle des branches de saule. J'ai placé dans une caisse, en hiver, des tubercules de pomme de terre, par exemple, de manière à les soustraire à l'action de la lumière (1). Les uns avaient leur sommet dirigé vers le haut, les autres vers le bas; mais, chez tous, les jets vigoureux prédominaient au sommet morphologique du tubercule, c'est-à-dire à l'extrémité opposée à sa surface d'attache. Dans les conditions que nous venons d'indiquer, les jets soutirent exclusivement du tubercule l'eau et les matières nutritives qui leur sont nécessaires (voy. fig. 122).

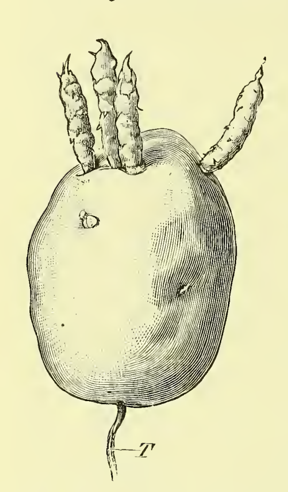


Fig. 122. — Tubercule de pomme de terre en voie de germination. T, cordon d'attache.

Des morceaux de racines, de 100 mm. de longueur et 10 mm. d'épaisseur, d'*Ulmus campestris*, par exemple, suspendus de manière que leur sommet morphologique soit dirigé vers le bas ou vers le haut, dans des vases cylindriques en verre contenant une petite quantité d'eau, et placés dans l'obscurité, ne produisent jamais que des pousses adventives à leur base morphologique. De nouvelles racines se forment rarement au sommet morphologique des matériaux d'étude; en général, elles ne se forment pas facilement. Nous voyons donc que si les pousses produisent de nouveaux jets à leur sommet morphologique, les racines en forment au contraire à leur base morphologique.

189. L'anisotropie des organes végétaux.

La direction que prennent les organes végétaux pendant leur croissance, et qu'ils conservent finalement, n'est jamais sous la dépendance de circonstances accidentelles. Il existe un rapport de causalité entre cette direction et une série de forces externes et internes de croissance. C'est pourquoi, dans certains cas, il est possible aussi d'expliquer, jusqu'à un certain point, les causes en vertu desquelles un organe végétal dans des conditions données prend telle direction de croissance

(1) Voy. Detmer, *Sitzungsberichte d. Jenaischen Gesellschaft f. Naturwissenschaft und Medicin*, 1884, p. 5.

plutôt que telle autre. Il y aura donc lieu ici de discuter quelques-uns de ces cas.

En cultivant des germinations de *Phaseolus*, de la façon indiquée dans le § 170, dans une caisse en zinc derrière une paroi en verre, il est facile de constater que les racines latérales de premier ordre font un angle déterminé avec la racine principale, que l'on a appelé angle limite du géotropisme. Les cultures ayant été effectuées dans l'obscurité, quand un grand nombre de racines latérales se seront développées, nous noterons la direction de leurs pointes par des traits à l'encre de Chine sur la surface extérieure de la paroi de verre. L'appareil sera alors exposé à l'influence de la lumière diffuse du jour sous une température constante. Les pointes des racines latérales modifieront considérablement leur direction de croissance, comme cela deviendra déjà visible après 24 heures. Il est évident que les racines ne croissent pas verticalement vers le bas sous l'action de la lumière, toutefois l'angle limite du géotropisme des organes radicaux alors formés est beaucoup moindre que dans l'obscurité.

Si nous examinons le sol au printemps, dans le voisinage d'une plante en fleurs d'*Adoxa Moschatellina*, on observe, sillonnant la terre, de nombreux rhizomes, d'un blanc d'ivoire, de cette plante. Ils croissent horizontalement dans le sol, et on peut se demander les causes du plagiotropisme de cet organe. Nous découpons les extrémités de quelques ramifications de rhizome sur une longueur de plusieurs centimètres; nous les introduisons ensuite dans la terre humide d'un pot à fleurs, de manière que leur sommet soit dirigé verticalement vers le haut, et nous plaçons le tout sous une cloche en verre dans un endroit obscur. Après quelques jours (2-3 jours, dans mes recherches), la portion, en voie de croissance, du sommet du rhizome sera dirigée horizontalement. Il résulte de cette expérience, et aussi d'autres recherches, que la courbure produite par l'accroissement provient exclusivement de l'action de la pesanteur. Le géotropisme des rhizomes d'*Adoxa* ne les amène pas dans une position verticale, mais — et c'est ce qu'il importe de remarquer — dans une position horizontale (1).

Il sera instructif aussi d'effectuer l'expérience qui va être indiquée, et que j'ai faite sur des pousses de *Sida Napaea* dépourvues de leurs feuilles, car elle nous montre que les effets ultérieurs du géotropisme peuvent aussi exercer une influence sur la direction de croissance des organes végétaux (voy. d'ailleurs le § 171). Nous enfonçons l'extrémité inférieure d'une pousse de *Sida* dans du sable humide, tassé contre une des parois d'une caisse en zinc, et nous abandonnons la pousse pendant 1/2 heure, dans une position horizontale, à une température de 20° C. environ, jusqu'à ce qu'elle montre une courbure géotropique vers le haut. Puis nous tournons la pousse de 90° vers la droite

(1) Voy. Stahl, *Berichte der deutschen botanischen Gesellschaft*, vol. 2, cah. 8.

ou vers la gauche. Après 2-3 nouvelles heures, nous voyons que la courbure de la pousse a beaucoup augmenté dans le sens horizontal, par suite d'un effet ultérieur du géotropisme. Mais cette courbure se combinera à une autre, dirigée vers le haut, produite directement par l'action de la pesanteur, de sorte que le sommet de la pousse se tournera obliquement vers le haut.

Il est fort intéressant de montrer qu'il existe des plantes dont la direction, par suite de leurs propriétés héliotropiques, paraît dépendre de la position du soleil. Quand on observe, au moment de leur floraison, des plantes de *Tragopogon orientalis* croissant librement, on remarque que leurs inflorescences ne sont ouvertes que pendant la matinée. Elles se ferment déjà pendant le cours de celle-ci. Pendant les heures de la matinée, les capitules sont tournés vers l'est; ils suivent la marche du soleil pendant le cours de la journée; ils se dirigent petit à petit vers l'ouest en passant par le sud, pour se redresser verticalement pendant la nuit. Le déplacement de l'inflorescence du *Tragopogon* est déterminé par le pédicelle qui la porte. A l'époque de la floraison de la plante, ce dernier est fort sensible à l'action de l'héliotropisme, et la croissance de sa face placée dans l'ombre est toujours plus grande alors que celle de la face directement tournée vers le soleil; c'est ce qui produit les phénomènes de mouvement dont nous venons de parler (1).

Les organes végétaux à symétrie rayonnée sont généralement orthotropes; ils croissent verticalement vers le haut ou vers le bas. Les organes plagiotropes, au contraire, sont d'ordinaire dorsiventraux, et leur croissance, plus ou moins horizontale, résulte précisément de leur dorsiventralité, car leurs faces ventrale et dorsale ne réagissent ordinairement pas de la même façon sous l'action des causes externes d'excitation.

Nous recouvrons de sable humide le fond d'une grande caisse en zinc; nous tassons une partie de ce sable contre une des parois de la caisse, et nous y enfonçons l'extrémité inférieure de nos matériaux d'étude, de manière à ne point déranger le sable et à leur donner une position horizontale. Nos expériences seront effectuées sur des organes végétaux qui montrent un plagiotropisme nettement accusé dans les conditions ordinaires, car nous avons précisément pour but d'en rechercher les causes, et nous nous servirons d'abord de jeunes tiges de *Pyrus Malus*, de stolons de *Potentilla reptans* ou d'*Ajuga reptans*. Il faut toujours avoir soin de choisir un certain nombre de matériaux d'étude présentant, autant que possible, le même développement, et ayant une longueur de 15-20 cm. Après les avoir débarrassés de leurs feuilles, nous les plaçons dans notre caisse, les uns la face supérieure en haut; les autres, la face supérieure en bas. Nous recouvrons ensuite la

(1) Voy. WIESNER, *Denkschrift d. Akadem. d. Wissensch. in Wien*, vol. 43.

caisse d'un couvercle. Les tiges sont abandonnées pendant longtemps dans un endroit obscur et humide (24 heures, par exemple). Au bout de ce temps, nous remarquons que tous les matériaux d'étude sont courbés et que ceux qui ont été placés horizontalement, la face inférieure dirigée vers le haut, ont une flexion plus forte que les autres, comme il est facile de s'en assurer en mesurant les rayons de courbure. Cette flexion vers le haut provient en tout cas du géotropisme négatif des morceaux de tiges. Dans leur position normale, l'épinastie agit en sens contraire du géotropisme. L'augmentation de courbure par la croissance lorsqu'on retourne la pousse doit donc être attribuée à l'action combinée du géotropisme et de l'épinastie. D'après H. de Vries, l'épinastie, c'est-à-dire l'existence d'une croissance plus forte à la partie supérieure des organes végétaux, serait due à des causes internes de croissance, hypothèse sur laquelle nous reviendrons.

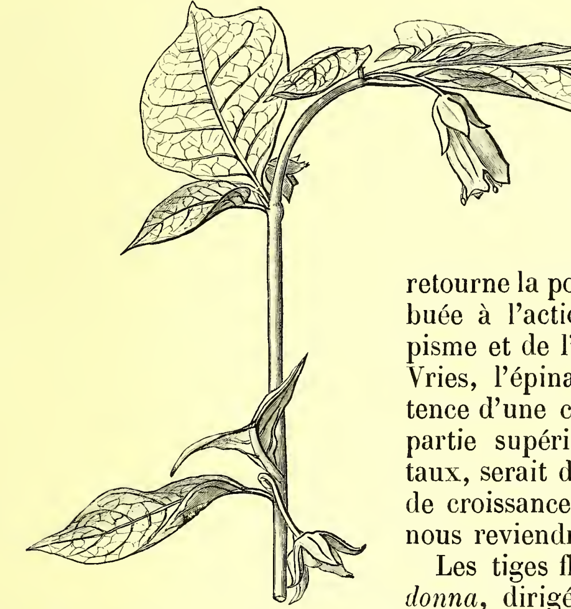


Fig. 123. — Tige d'*Atropa Belladonna* dont le sommet a subi une flexion épinastique.

Les tiges florifères d'*Atropa Belladonna*, dirigées horizontalement dans les conditions normales, sont toujours extrêmement épinastiques. En coupant des tiges de cette plante et en les plongeant dans l'eau par leur base, on remarque que ces tiges, verticales au début, sont horizontales après 12 heures de séjour dans l'obscurité (voy. fig. 123).

J'ai examiné aussi de la façon indiquée plus haut des jeunes pousses plagiotropes de *Corylus Avellana*, en faisant usage de caisses en zinc contenant du sable humide. Dans ces expériences, répétées fréquemment pendant l'été, j'ai toujours constaté, ce qui ne s'accorde pas avec les données de H. de Vries, que les tiges, débarrassées de leurs feuilles et dont la face supérieure était tournée vers le haut dans la caisse en zinc, se courbaient fortement vers le bas, et que celles dont la face inférieure était tournée vers le haut se courbaient fortement vers le haut. Une forte épinastie et un faible géotropisme agissent donc ici de concert.

D'après mes expériences, les tiges de *Corylus humilis* se courbent vers le haut dans la caisse en zinc, lorsqu'elles y sont mises dans leur position normale, et ne se courbent plus lorsqu'elles sont retournées. Les pousses de *Prunus avium*, d'après H. de Vries, se comporteraient de la même façon. Dans ce cas, le sens de la croissance des organes végétaux, qui est la résultante de l'action combinée du géotropisme et de l'hyponastie, dépend d'une croissance plus active, due à des causes internes, de la face inférieure de la pousse.

Effectuons maintenant sur le pétiole et sur la nervure médiane des feuilles les mêmes expériences que sur les tiges, afin de pouvoir nous rendre compte de ce fait, d'une grande importance au point de vue biologique, que la plupart des feuilles se placent à peu près perpendiculairement à la direction des rayons lumineux incidents. Les expériences se feront, par exemple, sur des pétioles en voie de croissance de *Calla palustris* et de *Petasites*, sur le pétiole commun des feuilles composées pennées de *Sambucus nigra* ou de *Juglans regia* (toujours sans limbe) et sur la nervure médiane du *Sambucus*. Les matériaux d'étude seront enfoncés, dans leur position normale ou retournés, dans le tas de sable de la caisse en zinc. Nous constaterons toujours que ces organes sont négativement géotropiques et, en même temps, plus ou moins fortement épinastiques. J'ai spécialement examiné le pétiole de *Calla* et la nervure médiane de *Sambucus*. Dans leur position normale, ils se courbent vers le bas; retournés, ils se courbent plus fortement vers le haut. Si les pétioles ou les nervures sont couchés sur le côté, de manière que leur plan médian soit horizontal, leur géotropisme négatif tendra à produire une flexion vers le haut dans le plan vertical, et l'épinastie, une courbure dans le plan horizontal. La courbure effective, qui sera la résultante de ces deux forces, devra donc s'effectuer dans un plan oblique.

H. de Vries a montré que l'héliotropisme ne jouait qu'un rôle secondaire dans la position des feuilles. Les pressions jouent un rôle très important dans ce phénomène. Si on couche des pétioles dans la caisse en zinc, les uns dépourvus de leur limbe, les autres accompagnés de leur limbe, en ayant toujours soin de tourner vers le haut la face supérieure de l'organe, les pétioles pourvus de leur limbe ne subiront pas de flexion si leur épinastie n'est pas trop considérable, ou se recourberont beaucoup plus faiblement vers le haut que ceux dont on a enlevé le limbe. Il faudra toujours songer à ce fait pour se rendre compte du sens de la croissance des feuilles ainsi que de celui des pousses plagiotropes dans les conditions normales. Comme nous venons de le voir, cette direction de croissance n'est autre chose que la résultante d'une série de facteurs différents. Dans un important travail de H. de Vries, on trouvera beaucoup d'autres données encore sur les phénomènes qui viennent de nous occuper, ainsi que sur la détermination de l'intensité de l'accroissement dans la production des cour-

bures des pousses ou des feuilles dont il vient d'être question (1).

On a déjà montré que les limbes, les pétioles et un grand nombre de tiges, possèdent la propriété de croître plus rapidement sur leur face morphologique supérieure que sur leur face inférieure. L'épinastie de ces organes est d'une grande importance pour leur orientation plagiotropique normale, et H. de Vries a émis l'idée que l'épinastie serait due à des causes internes de croissance. Des recherches sur les causes de l'épinastie des feuilles de *Phaseolus multiflorus* et de *Cucurbita* m'ont conduit à d'autres résultats (2). Dans des pots de fleurs, on cultive des germinations de *Phaseolus* et de *Cucurbita* en l'absence complète de lumière. Sous une température de 20° C., l'axe hypocotylé de *Cucurbita* prend une longueur considérable en 10 jours environ; les cotylédons sont dirigés verticalement et leurs faces supérieures se rejoignent exactement. En 14 jours environ, l'axe épicotylé de *Phaseolus* s'est considérablement allongé, et les feuilles primordiales, longuement pétiolées, se montrent recoquillées par suite de leur croissance hyponastique, c'est-à-dire d'une croissance plus forte sur leur face inférieure que sur leur face supérieure. Si on expose ensuite les germinations à la vive lumière diffuse du jour, les feuilles primordiales des haricots perdront leur forme recoquillée par suite de leur croissance épinastique; la face supérieure croîtra maintenant aussi activement que l'autre, de sorte que l'organe, primitivement orthotrope, sera devenu plagiotrope. La lumière, seule, provoque cette croissance plus énergique de la face supérieure de la feuille, qui ne se produit pas dans l'obscurité. L'épinastie n'est donc pas un phénomène spontané, mais un phénomène de nutation paratonique, et nous ne nous occuperons plus seulement de l'épinastie, mais encore de la photoépinastie des feuilles. Exposées pendant 3-5 heures à la lumière diffuse, après avoir atteint dans l'obscurité le stade de développement indiqué, nos germinations de *Phaseolus* ou de *Cucurbita* ne montrent pas encore de mouvement photoépinastique; mais si nous replaçons nos matériaux d'étude dans l'obscurité, les feuilles s'étaleront au bout de 6-12 heures. On constate donc ici un phénomène dû à un effet ultérieur de la photoépinastie.

Des nutations photoépinastiques se produisent toujours quand on éclaire des germinations, pas trop âgées, developpées dans l'obscurité, soit que la lumière rencontre les matériaux d'étude par le haut ou dans toute autre direction. Les feuilles tendent à se placer à peu près perpendiculairement à la direction des radiations lumineuses incidentes, et, en expérimentant sur des *Cucurbita*, on pourra aussi constater qu'un organe (notamment l'axe hypocotylé) — il en est de même pour d'autres plantes — exerce à la lumière une influence sensible sur l'orientation définitive d'autres organes (les cotylédons). L'héliotropisme

(1) Voy. H. de Vries, *Arbeiten d. botan. Instituts in Würzburg*, vol. 1, p. 223.
(2) Voy. Detmer, *Botan. Zeitung*, 1882, n° 46.

positif bien prononcé de l'axe hypocotylé agit considérablement sur la position des feuilles à la lumière quand les germinations sont soumises à un éclairage unilatéral.

Lorsque des feuilles en voie de croissance sont portées à la lumière, de leur position normale dans une position anormale, elles tendent à reprendre leur position primitive. Pour établir ce fait, j'ai fait une série de recherches qu'il sera instructif de répéter. On cultive au préalable quelques plantes de *Cucurbita* dans des pots à fleurs. Les expériences ne seront effectuées que lorsque les plantes auront développé plusieurs feuilles. Quelques feuilles seront alors fixées de telle sorte que leur pétiole soit vertical et que le sommet du limbe soit tourné vers le haut. Les feuilles seront liées à de petites baguettes par le sommet du pétiole, immédiatement au-dessous du limbe. En exposant ces feuilles à un éclairage unilatéral, de telle manière que leur face inférieure soit tournée vers la source lumineuse, les limbes reprendront bientôt leur position normale à la lumière, par suite de mouvements photoépinastiques. Si on expose à un éclairage unilatéral un pot de fleurs dans lequel se sont développées des plantes de *Cucurbita* dont les pétioles, non fixés, et tournant leur face inférieure vers la lumière, soient placés verticalement, les organes par des mouvements héliotropiques et photoépinastiques tendront à reprendre leur position normale à la lumière. Si nous plaçons dans l'obscurité des plantes de *Cucurbita* qui se sont d'abord développées dans des conditions normales, et si nous avons soin de redresser quelques-unes de leurs feuilles (le pétiole et le limbe), des mouvements photoépinastiques s'observeront chez les limbes jusqu'à ce qu'ils soient placés horizontalement (1).

Pour ce qui concerne la direction naturelle des organes des plantes et leur anisotropie, il sera particulièrement intéressant d'effectuer quelques observations et quelques expériences sur la croissance des pousses d'*Hedera Helix*. Les pousses de lierre sont nettement dorsiventrales et plagyotropes, si on en exclut les pousses fructifères, orthotropes, qui n'arrivent à leur complet développement qu'à un âge avancé de la plante. Des pousses libres de lierre sont coupées à une longueur de 30 cent. environ, et plantées dans des pots. Quand elles seront bien enracinées, ce qui arrivera dans un espace de 6 à 8 semaines, elles seront fortement liées à un tuteur vertical. Dans des conditions convenables, on apercevra alors d'intéressants phénomènes dans la portion du sommet qui dépasse le tuteur.

Ayant des plantes de lierre préparées de cette façon, je les ai placées au mois d'août devant la fenêtre d'une chambre tournée au

(1) Autres indications bibliographiques sur la direction naturelle des organes végétaux : FRANK, *Die natürliche wagerechte Richtung von Pflanzentheilen*, Leipzick, 1870; DARWIN, *Faculté motrice dans les plantes*, 1882; SACHS, *Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg*. vol. 2, p. 226; VÖCHTING, *Bewegungen der Blüthen und Früchte*, Bonn, 1882; NOLL, *Arbeiten des botan. Instituts in Würzburg*, vol. 3.

nord. Les pousses se sont aussitôt détournées de la fenêtre. Les sommets des pousses se dirigeaient horizontalement vers l'intérieur de la chambre et présentaient après 4 semaines l'aspect de la figure 124. Les pousses montraient des flexions négativement héliotropiques et photoépinastiques (il reste d'ailleurs à exposer d'autres recherches sur le mode d'action de la lumière). En conséquence, le côté éclairé des pousses était convexe et amenait les sommets des pousses dans une direction horizontale. Lorsque cet état fut atteint, les sommets ne se courbèrent pas davantage vers le bas à cause de leur géotropisme négatif (les propriétés géotropiques des pousses de lierre ont été étudiées par Sachs). Il s'ensuit que la position horizontale des pousses de lierre est une résultante entre l'action dirigeante de la lumière, d'une part, et celle de la pesanteur, d'autre part. Ces mêmes actions déterminent aussi la direction que prennent les tiges de lierre croissant librement dans la nature.



Fig. 124. — Tige d'*Hedera Helix* dont le sommet, sous un éclairage unilatéral, s'est détourné par une courbure des radiations lumineuses incidentes.

190. Généralités sur la solidité des organes des plantes.

Les plantes supérieures ont besoin, comme les animaux supérieurs, de dispositions spéciales pour pouvoir résister à certaines influences extérieures et garder leur forme. Dans certains cas, la turgescence joue un rôle important comme moyen de solidité des organes. Mais les recherches de Schwendener (1) nous ont fourni la preuve que les plantes supérieures possèdent un système mécanique plus ou moins cohérent (le stéréome) ayant, à beaucoup d'égards, des fonctions tout à fait analogues à celles du squelette osseux des animaux supérieurs.

Parmi les éléments (stéréides) du système mécanique, on distingue

(1) Voir Schwendener, *Das mechanische Princip im anatomischen Bau d. Monocotylen*, Leipzick, 1874.

en premier lieu les fibres scléreuses du tissu fondamental, puis les vraies fibres ou fibres libériennes, ensuite celles du collenchyme et enfin celles du bois. Les celulles scléreuses et les fibres libériennes sont des éléments fortement allongés dont les membranes lignifiées se montrent souvent très épaissies (voir fig. 125). Les fibres du bois (libriformes) leur ressemblent beaucoup; leurs parois, fort épaisses, présentent souvent des ponctuations aréolées. Le bois secondaire de *Tilia*, par exemple, est fort riche en fibres libriformes. Enfin, il faut aussi considérer, comme tissu mécanique, le collenchyme des parties jeunes des plantes encore en voie de croissance. Les éléments en sont facilement reconnaissables à la forme caractéristique de l'épaississement de leurs parois, qui est surtout localisé aux angles de la cellule (voy. fig. 126).

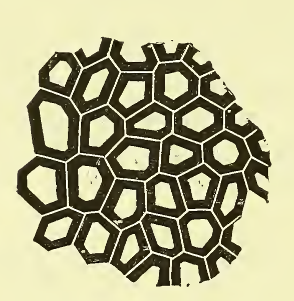


Fig. 125. — Sclérenchyme, en section transversale.

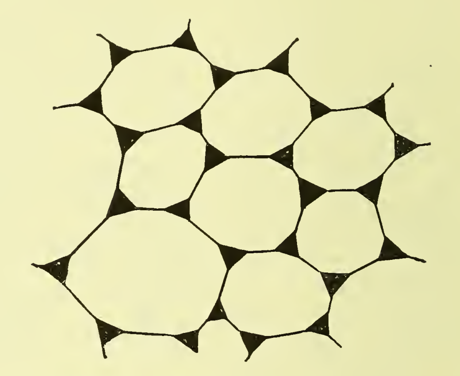


Fig. 126. — Collenchyme, en section transversale.

Dans les recherches sur la flexibilité et la résistance à la traction ou à la pression des organes des plantes, il ne suffit nullement de constater d'une façon générale l'existence de stéréides; il faut examiner en même temps leur disposition, parfaitement déterminée, dans les tissus.

Pour rendre des constructions flexibles en tous sens (surtout pour les tiges), il suffit que les éléments mécaniques soient rangés sur le bord de la section, et soient donc périphériques. L'espace entre les anneaux est rempli de parenchyme et d'autres tissus. Dans beaucoup d'organes qui n'exigent pas une flexibilité en tous sens (principalement dans les feuilles), le tissu mécanique ne se rencontre que sur les faces supérieure et inférieure. Dans le règne végétal, les constructions offrant de la résistance à la traction se distinguent par ce fait que les éléments mécaniques, dans l'organe considéré, ne sont plus périphériques, mais au contraire centraux, et ne forment plus qu'une masse unique et compacte (les racines et les rhizomes). Dans les constructions appelées à offrir de la résistance à la pression, il n'est pas indifférent que celle-ci s'exerce longitudinalement ou radialement. Les racines et rhizomes,

se développant dans le sol, sont soumis à une pression radiale, en outre d'une traction considérable; abstraction faite d'un stéréome, ils possèderont donc souvent un revêtement périphérique de tissu mécanique. Pour juger de la résistance mécanique dans un organe végétal, il est important d'examiner de plus près les rapports entre la solidité, la résistance à la traction (1) et l'élasticité du stéréome. Ce qui se fait à l'aide de l'appareil représenté par la fig. 127. L'organe à expérimenter, d'une longueur de 200 à 400 mm. et d'une largeur d'environ 2 millimètres, est pris à son extrémité supérieure entre 2 planches (B), serrées à l'aide des étaux *Sch* et *Sch'*. L'extrémité inférieure de l'organe est pressée entre 2 planchettes au moyen de l'étau Z. A celles-ci peuvent être suspendus, d'une façon quelconque, les poids destinés à allonger l'objet.

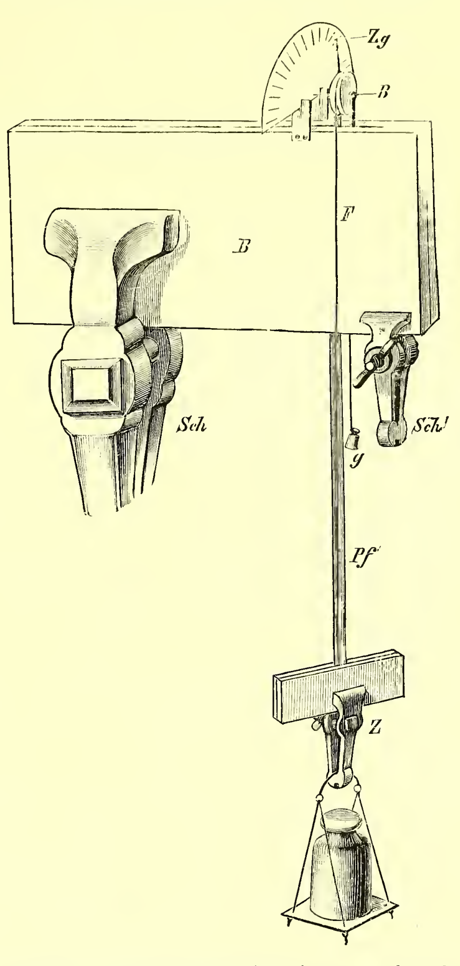


Fig. 127. — Appareil pour déterminer le module de résistance des organes végétaux à la traction et à la rupture.

En même temps que l'organe, on pince aussi un fil F dans l'étau inférieur; ce fil passe sur une poulie se mouvant facilement, et son extrémité libre soutient un léger contrepoids. A la poulie est fixée un indice dix fois plus long que le rayon de la poulie et dont la pointe peut se mouvoir sur un arc de cercle divisé en millimètres. De cette façon, on peut lire sur le cercle gradué, et amplifiée dix fois, la grandeur de l'allongement de l'organe provenant de la charge.

Pour l'observation, il convient d'abord, comme je l'ai fait également, d'employer une bande longitudinale, d'une longueur d'environ 400 mm. et d'une largeur de 2 mm., prise dans la partie médiane d'une feuille de *Phormium tenax*.

(1) Le poids maximum, ramené à l'unité de surface, qui ne dépasse pas la limite d'élasticité, représente le module de la résistance à la traction. Le module de la résistance est la charge pour l'unité de surface qui détermine la rupture.

On pince cette bande dans l'appareil décrit précédemment, on l'allonge sous la charge d'un kilog., puis on constate la grandeur de l'allongement et on enlève le poids. Si l'organe reprend sa longueur primitive, c'est que sa limite d'élasticité n'aura pas été dépassée par l'allongement. On renouvelle l'essai avec des charges de 2, 3, — 10 kil. jusqu'à ce qu'enfin la bande se déchire. En expérimentant sur des lambeaux de tissus qui contiennent, comme la feuille de *Phormium*, des fibres libériennes ou scléreuses comme tissu mécanique, on trouve qu'ils restent parfaitement élastiques, même sous une charge considérable. Les organes riches en collenchyme, au contraire, quoique offrant également une grande solidité, ne sont que très imparfaitement élastiques et restent allongés à la suite d'une extension. Pour déterminer exactement le module de la traction d'une bande de tissu, on doit le calculer pour un millimètre carré de surface de stéréome. Si, par exemple, sous un grossissement de trente fois, le tissu mécanique d'une section transversale d'une feuille de *Phormium* occupe une surface de 900 mm. carrés, la surface effective de la section du stéréome est d'1 mm. carré. Et si la bande de *Phormium* se déchire sous une charge de 15 kilogr., le module de rupture d'un mm. du stéréome de *Phormium* est égal à 15. Il y a souvent de très grandes difficultés à déterminer la surface véritable de la section du stéréome, même à une certaine approximation. Dans beaucoup de cas, on est réduit à des évaluations approchées (1).

191. La disposition du tissu mécanique dans les organes flexibles, offrant de la résistance à la traction et à la pression.

Il se présente ici une série de sujets que j'ai observés moi-même pour la plupart, et qui conviennent bien pour l'étude de la disposition du stéréome. Il suffit d'examiner au microscope des sections transversales des organes de la plante. Commençons par les organes flexibles.

Dans le pétiole d'une feuille de *Begonia*, le tissu mécanique est représenté par un fort anneau de collenchyme placé directement sous l'épiderme. Cet anneau entoure le parenchyme, dans lequel s'observent des faisceaux libéro-ligneux. Dans la tige de *Lamium album*, il se trouve aux quatre angles des amas collenchymateux formant deux supports disposés en croix. La section transversale d'une tige de *Falcaria rivini* présente une moelle développée, un anneau de faisceaux libéro-ligneux et, comme tissu mécanique, des bandes de collenchyme, sous l'épiderme, qui alternent avec le parenchyme servant à l'assimilation.

(1) Bibliographie : AMBRONN, *Jahrbücher* de PRINGSHEIM, vol., 12; HABERLANDT, *Physiolog. Pflanzenanatomie*, Leipzick, 1884, p. 96; TSCHIRCH, in *Jahrbücher* de PRINGSHEIM, vol. 16; LUKAS, *Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. in Wien*, vol. 85.

Dans les inflorescences de *Papaver*, d'*Armeria maritima*, de *Lychnis viscosa* et d'*Anthericum ramosum*, le tissu mécanique est constitué par un anneau fermé de sclérenchyme. Entre celui-ci et l'épiderme se trouve un tissu vert. A l'intérieur se montrent des faisceaux libéro-ligneux. Dans l'examen microscopique d'une section transversale d'un chaume de *Juncus glaucus*, on aperçoit sous l'épiderme un tissu vert et des faisceaux scléreux qui alternent avec lui. On voit ensuite de larges canaux aérifères et de nombreux faisceaux libéro-ligneux avec quelques vaisseaux assez larges. Ces faisceaux qui présentent, tant sur leurs faces intérieures qu'extérieures, un revêtement de fibres libériennes, sont distribués dans le tissu fondamental. L'image qu'on voit dans l'étude d'une section transversale du chaume de *Sesleria cærulea* est facile à comprendre. Nous examinerons surtout le revêtement libérien des faisceaux ; il en constitue le tissu mécanique. Dans le chaume du *Molinia cærulea*, il y a un anneau fermé de tissu mécanique, renforcé par des côtes subépidermiques qui le rejoignent. Les faisceaux libéro-ligneux sont enfermés en partie dans l'anneau et en partie à son intérieur.

Il est intéressant aussi d'examiner le tissu mécanique des gaines foliaires de graminées. Ces gaines, tubuliformes, qui embrassent le chaume, ont surtout pour objet de protéger les régions tendres en voie de croissance de la tige, qui se trouvent, comme on le sait, chez les graminées, à la base des entre-nœuds. Nous pratiquons, par exemple, de minces sections transversales dans un chaume de seigle immédiatement au-dessus d'un jeune nœud. Sous l'épiderme de la face intérieure de la gaine foliaire, nous observons un tissu exempt de chlorophylle; sous l'épiderme de la face extérieure, au contraire, un tissu renfermant de la chlorophylle. Les faisceaux libéro-ligneux sont facilement reconnaissables : ils sont pourvus, tant sur leurs côtés intérieurs qu'extérieurs, d'un fort amas de fibres libériennes.

Pour étudier la disposition du tissu mécanique dans les organes non flexibles en tous sens, nous pratiquerons, par exemple, des sections transversales dans une feuille de *Phormium tenax* et dans la nervure médiane d'une feuille de *Zea Mays* ayant achevé sa croissance. La feuille de *Phormium* n'a pas identiquement la même structure à sa partie supérieure et à sa partie inférieure, mais le stéréome recouvrant les faisceaux libéro-ligneux se présente aussi bien vers la face supérieure de la feuille, que vers la face inférieure. Dans les *Zea*, des masses scléreuses subépidermiques se montrent à la face supérieure de la feuille. Le tissu mécanique de la face inférieure de la feuille se trouve en étroite relation avec le groupement des grands faisceaux libéro-ligneux.

Comme on l'a déjà fait remarquer, les rhizomes et les racines sont construits en vue de résister surtout à la traction et à la pression. Nous détachons une section transversale du rhizome de *Carex glauca*. L'anneau périphérique de sclérenchyme, qui n'est du reste pas fort

développé, sert à résister à la pression radiale. Ce cylindre central et creux est formé d'éléments à parois épaisses. On y trouve la plupart des faisceaux libéro-ligneux (quelques-uns se rencontrent cependant aussi à l'extérieur du cylindre). C'est ce cylindre qui permet à l'organe de résister à la traction.

On rencontre une disposition tout à fait analogue du tissu mécanique lorsqu'on examine une section transversale de racine latérale de premier ordre de *Zea Mays*. Seulement, ici, l'anneau périphérique de sclérenchyme est beaucoup plus développé que dans le rhizome de *Carex* (1).

Remarquons encore que, dans tous les cas que j'ai examinés, les fibres scléreuses et libériennes du tissu mécanique se colorent en rouge, lorsqu'on traite les coupes par la phloroglucine et l'acide chlorhydrique (voy. p. 39). Ces fibres doivent donc être lignifiées.

192. Les phénomènes de corrélation dans le règne végétal.

La croissance d'un organe d'une plante exerce souvent une certaine influence sur celle d'une autre partie du même individu. On a commencé dans ces derniers temps à porter tout particulièrement son attention sur les phénomènes de corrélation dans le règne végétal. Nous allons faire connaître quelques-uns de ces faits.

En enlevant la pousse supérieure à un jeune sapin (*Abies excelsa*), on observera dans le cours de 1 à 3 années le redressement d'une ou de plusieurs des pousses latérales du verticille supérieur qui croissaient horizontalement. Une des pousses latérales surpasse d'ordinaire les autres. Elle remplace alors complètement le sommet abattu ; ce qui se voit non seulement par sa croissance orthotrope, mais encore par la forme de ses ramifications. Une pousse latérale, horizontale de sapin se ramifie dans une direction horizontale vers la droite ou la gauche, tandis qu'une pousse normale du sommet ou la pousse latérale qui la remplace présente des verticilles de 4 à 5 rayons. Les expériences que j'ai instituées pour connaître les phénomènes de corrélation, dont je viens de parler, ont été faites sur des sapins d'une hauteur d'homme, environ, croissant dans un bois (2).

On place des tubercules de pomme de terre dans un endroit obscur, leur région d'attache tournée vers le bas (les tubercules n'ont pas besoin d'être en terre, ni d'être arrosés). Après un temps plus ou moins long, on voit pousser presque uniquement les bourgeons voisins du sommet morphologique du tubercule. Mais si, dans quelques tubercules, on enlève les jets à mesure qu'ils croissent, on verra

(1) Voy. les ouvrages cités dans le § 190, surtout celui de Schwendener.
(2) Voy. Sachs, *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie*, p. 612.

que cette opération réagira sur les yeux situés plus bas dont les bourgeons ne se développeraient pas, ou seulement d'une façon imparfaite, si l'on n'avait pas écarté les jets du sommet.

Un autre phénomène de corrélation peut être facilement constaté sur les germinations de *Phaseolus multiflorus*. Pour cela, on les cultive dans la terre meuble de jardin, et lorsque l'épicotyle a atteint une longueur de quelques centimètres, on le coupe à ras du sol. A la place de la portion de tige disparue, les bourgeons, dans l'aisselle des cotylédons, se mettent à germer et sortent bientôt du sol.

C'est un fait connu que les pédoncules des boutons de fleurs de presque toutes les espèces du genre *Papaver* se courbent vers le bas à un stade déterminé de leur développement. C'est un phénomène qui semble, d'après les expériences, provoqué par une corrélation. Le bouton, se trouvant en relation organique avec son pédoncule, exerce sur lui une certaine influence qui se manifeste dans celui-ci par une flexion fortement prononcée. Il penche vers le bas. La preuve en est fournie par l'expérience suivante, faite d'abord par Vöchting (1). Je l'ai répétée avec succès sur une plante de pavot croissant à l'air libre. On détache quelques boutons de leur pédoncule et on laisse les autres intacts ou on les affermit, dans d'autres cas, à leur pédoncule à l'aide d'un fil de soie. La courbure du pédoncule disparaît toujours après quelque temps. Cette expérience montre donc que la flexion ne provient pas simplement du poids des boutons, mais qu'elle est due au contraire à une corrélation.

Il sera très instructif d'observer les particularités et le rôle des écailles des bourgeons chez différentes plantes. Chez l'*Aesculus* et le *Pavia*, les écailles extérieures des bourgeons d'hiver sont brunes et membraneuses. Elles sont suivies d'écailles très grandes, succulentes et vertes, puis enfin de feuilles. L'étude du développement évolutif nous apprend déjà que toutes les écailles de bourgeons ne sont autre chose que des feuilles restées à des stades inférieurs de leur développement. L'expérience suivante vient confirmer ce résultat. On coupe le sommet et on enlève les feuilles d'une pousse d'*Aesculus* ou de *Pavia*, dès la sortie des bourgeons d'hiver, sans séparer les rameaux de la plante-mère. Les bourgeons, à l'aisselle des feuilles, se développent alors en pousses feuillées dans le courant de l'été, tandis que, normalement, ils deviendraient des boutons d'hiver. Ce qu'il y a de remarquable dans ce phénomène de corrélation, c'est que les pousses parvenues à leur complet développement ne produisent aucune écaille de bourgeon (c'est du moins ce que j'ai observé dans mon expérience), mais, outre des feuilles, des formes intermédiaires entre les écailles et les feuilles. Les feuilles inférieures de la pousse ont de petits limbes, cependant déjà

(1) Voy. Vöchting, *Die Bewegungen d. Blüthen und Früchte*, Bonn, 1882.
(2) Voy. Göbel, *Botanische Zeitung*, 1880, p. 771 et 807.

découpés, et ceux-ci sont insérés sur un organe foliacé squamiforme. Les feuilles supérieures, au contraire, présentent un aspect normal. Il y a donc chez l'*Aesculus* et le *Pavia*, comme aussi chez d'autres plantes, une étroite corrélation entre l'absence du sommet et des feuilles, d'une part, et la forme du développement des bourgeons, d'autre part.

V. LES MOUVEMENTS DE VARIATION DES PLANTES (1).

193. Expériences sur l'Acacia lophanta.

Les mouvements de variation, qui se font la plupart du temps par l'intervention de certains nœuds, sont propres à certains organes végétaux. Ils proviennent en partie de causes internes, en partie de l'influence des conditions extérieures (changement d'éclairage, secousses), mais toutes ces circonstances, fait très important et que nous développerons plus loin, ne produisent que des changements dans l'état de turgescence des cellules des masses histologiques qui provoquent dabord les mouvements. Toute une série d'expériences, d'abord sur l'*Acacia lophanta*, nous permettront de nous rendre compte des remarquables mouvements de variation des végétaux.

Les folioles de la feuille composée d'*Acacia lophanta* sont étalées horizontalement sous l'influence de la vive lumière diffuse du jour. Le soir, les folioles se rassemblent vers le haut pour s'étaler de nouveau le jour suivant sous l'excitation de la lumière. Mais on peut aussi forcer les folioles à prendre pendant le jour leur position nocturne, en transportant dans un endroit obscur la plante sur laquelle on expérimente (provenant de semences dans un petit pot à fleurs). Au bout d'une demi-heure ou d'une heure, les folioles se seront rassemblées, mais elles s'étaleront de nouveau si on les replace à la lumière diffuse. Les mouvements des folioles d'*Acacia* proviennent du changement d'éclairage, car il est facile d'établir qu'ils s'effectueraient aussi si la température restait constante pendant toute la durée de l'observation.

J'ai pu prouver que les folioles d'*Acacia lophanta*, placées dans la lumière directe du soleil, prennent également une position semblable à celle qu'elles occupent dans l'obscurité. Un *Acacia* à feuilles étalées est exposé, sous une cloche de verre, à la lumière directe du soleil. Les folioles ne tarderont pas à se rassembler; mais elles s'étaleront de nouveau horizontalement, si on expose la plante, toujours sous la cloche, à la vive lumière diffuse du jour.

(1) Mouvements provoqués, indépendants de la croissance.

Il sera très intéressant aussi d'observer les phénomènes présentés par des *Acacia lophanta* soustraits aux conditions normales d'éclairage, et complètement privés de lumière par leur transport dans un endroit tout à fait obscur (par exemple une armoire). Leurs feuilles continueront à présenter les mouvements périodiques, provoqués dans les circonstances normales par l'alternance quotidienne du jour et de la nuit. Un exemplaire particulièrement robuste d'*Acacia lophanta*, croissant dans un petit pot à fleurs, et tenu dans une obscurité constante, ouvrit pendant quatre jours ses folioles dans la journée et les ferma pendant la nuit. Peu à peu, l'amplitude du mouvement diminua, et après 4 jours, le mouvement était complètement annulé. Les folioles avaient été mises en état de rigidité par leur séjour dans l'obscurité. Les folioles des feuilles les plus âgées gardaient alors une position horizontale; celles des feuilles plus jeunes, au contraire, s'étaient plus ou moins rejointes vers le haut. Lorsque la plante fut replacée dans des conditions normales d'éclairage, les folioles regagnèrent leur état phototonique, c'est-à-dire qu'elles furent de nouveau sensibles à l'alternance du jour et de la nuit. Si l'on veut suivre avec précision les mouvements périodiques dus à des effets ultérieurs des feuilles d'*Acacia* soustraites aux conditions naturelles et plongées dans une obscurité complète, il faut, d'après Pfeffer, opérer de la manière qui va suivre. On fabrique, avec du fort papier, une série de triangles ayant des angles différents, mais de grandeur connue. Il suffit que chaque triangle diffère du précédent de 10 degrés. Pour déterminer l'inclinaison des folioles, ces coins seront placés entre celles-ci de façon à les toucher. En renouvelant très souvent dans le couraut de la journée (par exemple toutes les 2 heures) les expériences sur une feuille déterminée d'une plante d'*Acacia* séjournant dans l'obscurité, on arrivera à une connaissance exacte des mouvements périodiques dus à des effets ultérieurs (1).

194. Expériences sur le Phaseolus multiflorus.

Sur les feuilles du *Phaseolus*, comme sur celles de l'*Acacia*, on peut observer des mouvements périodiques qui proviennent du changement journalier et alternatif de l'éclairage. Le pétiole commun se dresse le soir et s'abaisse le matin, tandis que chacune des 3 folioles (voy. les fig. 128 et 129) prend une position presque horizontale sous l'influence de la lumière. Ces folioles se rejoignent au-dessous quand la lumière fait défaut. Les folioles du *Phaseolus* montrent aussi des actions ultérieures des mouvements périodiques, quand on plonge dans une obscurité constante des plantes développées dans les conditions normales. Pour ces observations, on se sert de fortes plantes cultivées dans des pots à fleurs.

(1) Voy. Pfeffer, *Die periodischen Bewegungen der Blattorgane*, Leipzick, 1875.

Dans les expériences que j'ai effectuées, les effets ultérieurs des mouvements périodiques se manifestaient durant plusieurs jours, mais en diminuant constamment d'amplitude. Finalement, les feuilles étaient mises en état de rigidité par l'obscurité, état dans lequel elles se montraient étalées horizontalement. Replacées dans les conditions ordinaires d'éclairage, les jeunes feuilles reprenaient aussitôt leur état phototonique; les plus vieilles étaient manifestement beaucoup moins sensibles à l'action de la lumière.

Les phénomènes de croissance jouent évidemment un certain rôle dans les mouvements périodiques des feuilles de *Phaseolus* en voie de développement. Mais les mouvements des feuilles de haricots complètement développées, comme c'est le cas pour beaucoup d'autres plantes



Fig. 128. — Feuille de *Phaseolus multiflorus* dans sa position diurne.



Fig. 129. — Feuille de *Phaseolus multiflorus* dans sa position nocturne.

(*Mimosa*, *Oxalis*, etc.), sont exclusivement provoqués par des variations de turgescence. Et ces changements qui déterminent les mouvements ne se produisent qu'aux renflements basilaires des feuilles (au renflement du pétiole commun comme à celui des 3 folioles). Il sera instructif de comparer la structure anatomique du renflement avec celle des tissus du restant du pétiole commun. On examinera donc une section transversale du renflement basilaire du pétiole commun de la feuille de *Phaseolus*. Sous l'épiderme garni de poils, on trouve un parenchyme très développé, dont les cellules offrent à peu près la même forme sur les côtés supérieur et inférieur du renflement. Vers le milieu de la section, on observe un certain nombre de faisceaux libéro-ligneux entourant la moelle. L'observation microscopique d'une section transversale faite au milieu du pétiole commun montre que l'écorce, qui présentait un développement si considérable au renflement, n'est ici que relativement peu développée. On y rencontre un collenchyme

(dans les bords saillants) et un parenchyme cortical ordinaire. Les faisceaux libéro-ligneux entourant la moelle ne sont pas au milieu de la section; ils se trouvent plutôt sur la périphérie. Chez les haricots, comme aussi chez les *Acacia*, les *Mimosa*, etc., ce sont les cellules du parenchyme cortical des renflements qui produisent les mouvements de variation des feuilles. Comme on l'a déjà fait remarquer, ces mouvements, dans un organe arrivé à son complet développement, ne sont pas dus à la croissance, mais seulement à la turgescence. C'est là un fait qui devient de suite évident si l'on considère que les renflements conservent la grosseur acquise après l'achèvement de leur croissance, alors même qu'ils serviraient pendant des mois aux mouvements des feuilles.

Les mouvements périodiques causés par l'alternance des conditions d'éclairage proviennent de ce que le parenchyme cortical des renflements éprouve un allongement différent sur deux faces opposées à cause des variations de turgescence. Ainsi, par exemple, l'abaissement au soir de chacune des folioles est dû à ce que les cellules parenchymateuses du côté supérieur du renflement sont plus fortement turgescentes que celles du côté opposé. Il en résultera donc une courbure convexe du côté supérieur du renflement.

Nous allons mettre en évidence, par ce qui va suivre, un facteur fort important à considérer pour le sujet que nous traitons. On enlève le soir, à l'aide d'un couteau très tranchant, la moitié supérieure du renflement à la foliole terminale d'une feuille trifoliolée d'un haricot cultivé dans un pot de fleurs. Lorsque l'obscurité arrive, les folioles latérales se penchent comme d'habitude, mais la foliole opérée se redresse. Dans une expérience faite en juillet, par exemple, je l'ai retrouvée, presque toute droite à 11 heures du soir (l'opération avait été faite à 5 heures du soir, et la plante, placée dans un endroit mal éclairé). Le lendemain matin, la foliole terminale était de nouveau penchée. Il s'ensuit que les changements de position nyctitropiques de ces feuilles, produits par des mouvements de variation, proviennent toutes deux de ce que la turgescence des cellules n'est augmentée par l'obscurité que dans l'une des deux moitiés antagonistes du renflement (dans notre cas, la supérieure). L'obscurité augmente au contraire la turgescence de toutes les cellules du parenchyme dans le renflement, tandis que la lumière la diminue. Mais cette augmentation ou cette diminution de la turgescence ne s'effectue pas avec la même rapidité dans les deux moitiés antagonistes du renflement. Dans le renflement des folioles de haricots, la turgescence croît, par exemple, plus rapidement dans les cellules de la moitié supérieure que dans celles de la moitié inférieure; les folioles se courberont donc vers le bas. Notre expérience nous montre en même temps que la turgescence augmente aussi dans la moitié inférieure du renflement; car s'il n'en était pas ainsi, la feuille opérée ne se serait pas relevée au soir.

Indiquons encore quelques expériences montrant que les renflements servant aux mouvements des fèves — et ceux d'autres plantes se comportant d'une façon analogue — sont sensibles au géotropisme. Si on place dans une position retournée un exemplaire de *Phaseolus* cultivé dans un pot à fleurs, les feuilles se relèvent parce que le renflement qui se trouve à la base du pétiole commun subira une forte courbure géotropique. Si on redresse la plante, les feuilles reprennent dans l'espace d'un jour leur position normale. Lorsqu'une plante de haricot a demeuré pendant plusieurs jours dans la position renversée, et qu'on la remet droite, les feuilles ne reprennent que très lentement, ou plus jamais, leur position normale, parce que la courbure géotropique du renflement de la feuille est fixée alors par la croissance.

195. Expériences sur le Mimosa pudica et d'autres plantes.

Les feuilles de *Mimosa pudica* exécutent leurs mouvements aussi bien à la suite de secousses ou d'attouchements qu'à la suite des variations d'intensité lumineuse. Ces mouvements sont produits par les renflements des pétioles primaires et des pétioles secondaires des feuilles, et par ceux des folioles. Pendant leur culture, qui se fait le plus convenablement dans des pots à fleurs, il faut veiller à ce que ces plantes, issues de graines, soient exposées à la plus haute température possible (20-25° C.) et qu'elles aient aussi à leur disposition une grande quantité d'eau. Quand la culture se fait dans une chambre ordinaire, on réalise le mieux cette dernière condition, en plaçant une grande cloche de verre sur le vase de culture aussitôt que la plante sort de terre, naturellement sans trop gêner la circulation de l'air. Dans les fortes plantes, le pétiole primaire est dirigé plus ou moins vers le haut pendant le jour, et les folioles sont étalées. On plonge subitement une plante dans l'obscurité pendant le jour, en recouvrant la cloche de verre d'une boîte de carton. Les pétioles primaires se relèvent d'une façon sensible de façon à former un angle aigu avec la tige, et les folioles se rassemblent vers le haut. Quand on laisse à la lumière des plantes de *Mimosa* sous une cloche de verre, on voit que les folioles se rassemblent vers le soir et que les pétioles primaires se penchent avec l'arrivée de l'obscurité. Une obscurité subite pendant le jour, d'une part, et celle qui est normalement amenée par la nuit, d'autre part, agissent donc de la même façon sur les folioles du *Mimosa pudica*, mais de manière différente sur les pétioles primaires (1).

On place une plante de *Mimosa*, cultivée d'abord dans les conditions normales, dans une atmosphère suffisamment humide et constamment obscure. Comme chez l'*Acacia* et le *Phaseolus,* des mouve-

(1) Pour les causes de ces phénomènes complexes, voy. Pfeffer, *Die periodischen Bewegungen etc.*, 1875, page 74.

ments se produisent après quelque temps, c'est-à-dire que les folioles sont étalées pendant le jour et rassemblées pendant la nuit. Peu à peu, ces mouvements cessent et, en même temps, les feuilles perdent leur sensibilité. Lorsqu'on observe un *Mimosa* placé dans l'obscurité, il faut tenir compte de ce que les feuilles d'âges différents d'une même plante ne se comportent pas de la même manière. Quand les mouvements périodiques n'ont plus lieu, les feuilles raidies par l'obscurité ne se présentent pas dans leur position nocturne normale. Au contraire, les pétioles primaires des feuilles rendues rigides par l'obscurité ont une position à peu près horizontale et les folioles sont déployées. Met-on alors la plante pendant peu de temps à la lumière, et ensuite de nouveau dans l'obscurité, elle ne réagit pas encore au changement d'éclairage ni aux secousses ou aux attouchements; ses folioles ne se ferment pas; la plante est encore engourdie par l'obscurité. L'état phototonique revient sous un éclairage de plus longue durée; le *Mimosa* reprend d'abord sa faculté de réagir sous le changement de l'intensité lumineuse; plus tard, il redevient sensible aux secousses et aux attouchements. J'ai tenu un *Mimosa pudica* (*a*), du 16 au 21 août à 7 heures 1/2 du soir, dans l'obscurité à une température d'environ 20° C. Le soir du 21 août, toutes les feuilles, même les deux plus jeunes, étaient complètement engourdies par l'obscurité. La plante *a* fut alors placée à une fenêtre avec une autre *b*, qui était restée soumise aux conditions normales d'éclairage. Le 22 août, la lumière du soleil levant put agir jusqu'à 10 heures sur les deux plantes; elles furent alors placées toutes deux dans l'obscurité. Mais tandis que les folioles de la plante *b* se fermaient, celles de la plante *a* restaient ouvertes. Les feuilles de la plante *a* ne réagissaient pas non plus à la secousse ou à l'attouchement, elles étaient encore engourdies par l'obscurité. Après avoir été plongées pendant une demi-heure dans l'obscurité, les deux plantes furent ramenées à la lumière. Le soir du 22 août, quelques folioles de la plante *a* se refermèrent. Le 23 août, la sensibilité à l'attouchement revint, et il se produisit aussi un mouvement très énergique de reploiement des feuilles, qui se fermèrent le soir. Beaucoup de folioles de la plante *a* devinrent jaunes et tombèrent pendant les derniers jours de l'expérience.

Les *Trifolium pratense* observés dans la nature ou après avoir été cultivés à l'aide de semences dans des pots à fleurs, montrent que leurs folioles s'ouvrent pendant le jour et se rassemblent en haut le soir. Les petites feuilles d'*Oxalis Acetosella* se rassemblent au contraire, le soir, vers le bas.

196. Les mouvements de variation du Mimosa pudica produits par les secousses ou l'attouchement.

Le *Mimosa pudica* n'est fort excitable que sous une température assez

élevée et lorsque le sol comme l'air ambiant sont suffisamment humides. Si on imprime alors des secousses à un *Mimosa*, issu de semence dans un pot à fleurs, sans toucher à la plante elle-même, il se produit une excitation. Les pétioles primaires s'abaissent, les pétioles secondaires se rapprochent les uns des autres, et les folioles se rassemblent en avant et vers le haut (voy. fig. 130). Tous ces mouvements ont leur siège dans les renflements qui se trouvent à la base des feuilles et des pétioles des folioles. Ils ont une structure analogue à ceux des feuilles du *Phaseolus*. On peut mettre en mouvement le *Mimosa*, non seulement par des secousses, mais encore par des attouchements. Quand on touche avec précaution la partie supérieure du grand renflement basilaire du pétiole primaire de la feuille, il ne s'ensuit aucun mouve-



Fig. 130. — Portion de pousse de *Mimosa pudica*. La feuille gauche n'a pas été excitée, la feuille droite a subi une excitation.

ment. Mais il s'en produit, si on excite de la même manière le côté inférieur. Ainsi donc la partie inférieure seule du renflement est sensible à l'attouchement. Ses cellules perdent de l'eau (probablement parce que leur protoplasme devient perméable à l'eau à la suite de l'excitation). Par leurs contractions, aidées d'une forte tension positive du parenchyme du renflement, il se produit un mouvement énergique vers le bas des pétioles primaires. La perte d'eau dans le renflement à la suite d'une excitation et l'existence d'une tension peuvent se démontrer de la façon suivante.

Le pétiole primaire est séparé du renflement à l'aide d'un instrument très tranchant; après quoi, le *Mimosa* est laissé pendant quelque temps sous une cloche de verre dans une atmosphère saturée d'eau. Puis on excite le renflement quand il s'est en quelque sorte rétabli. Alors il s'abaisse et l'eau sort par la surface de section. Dans une plante non blessée, l'eau du renflement est principalement chassée dans la tige

et le pétiole primaire. Mais, à la suite de cette perte d'eau des cellules, il y aura toujours un relâchement (diminution de turgescence) du parenchyme de la face inférieure du renflement. On coupe un des renflements jusqu'à l'axe de la pousse, sans le séparer de son pétiole. Il se courbe naturellement de la façon connue, à la suite de l'excitation qu'il a subie. Par deux incisions longitudinales, sépare-t-on du corps fibro-vasculaire, le parenchyme supérieur et inférieur du renflement, le premier se courbe fortement vers le bas, l'autre faiblement en haut. Si l'on place dans l'eau l'organe motile, ainsi préparé et réuni à son pétiole, la courbure du parenchyme supérieur et surtout celle du parenchyme inférieur, dirigée vers le haut, augmentent sensiblement, car les cellules auront regagné leur turgescence. Les lamelles isolées de parenchyme dépassent aussi en longueur le système libéro-ligneux du renflement, et tout prouve que des tensions considérables doivent exister dans les organes moteurs intacts entre le cordon axile, d'une part, et le parenchyme, d'autre part.

La simple expérience suivante est très instructive. A l'aide de ciseaux, on coupe avec précaution une foliole à l'extrémité d'un pétiole secondaire d'une plante de *Mimosa* très sensible, et cela sans secouer le sujet. Ou bien on excite une foliole de *Mimosa* en laissant tomber sur elle des rayons solaires concentrés au foyer d'une lentille. L'excitation se propage dans la plante par suite du mouvement de l'eau dans celle-ci. Du sommet à la base du pétiole secondaire, la propagation de l'excitation provoque un rassemblement des paires de folioles de plus en plus éloignées. Les folioles voisines du pétiole secondaire (d'abord les inférieures, ensuite les supérieures) se rassemblent. Il peut même se produire une flexion vers le bas du pétiole primaire, et l'excitation peut gagner d'autres feuilles de l'objet soumis à l'expérimentation. La cause de l'excitation vient-elle à cesser, si d'autres mouvements ne sont pas produits, les folioles reprennent en quelques minutes leur position de repos (1).

197. Autres observations sur les mouvements de variation provoqués par les secousses ou l'attouchement.

Chacune des folioles d'*Oxalis Acetosella*, plante qui se rencontre souvent dans les bois humides, est pourvue d'un renflement et se montre sensible à la secousse et à l'attouchement. Si on secoue le pétiole commun d'une feuille, on peut suivre distinctement le mouvement dû à l'excitation (une flexion). Mais il faut donner un grand nombre de chocs sur le pétiole commun pour obtenir le maximum de flexion des folioles.

(1) Voy. Pfeffer, *Physiologische Untersuchungen*, 1873, et Sachs, *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie*, 1882, p. 787.

Chez le *Mimosa*, au contraire, il suffirait d'une simple petite secousse pour provoquer un mouvement complet.

Les lobes stigmatiques de *Martynia* (Gesnéracée) sont doués d'une très grande sensibilité, comme je m'en suis maintes fois assuré. Touchées, les faces internes des lobes se rapprochent aussitôt. Les lobes stigmatiques de *Mimulus* (par exemple du *M. cardinalis*) réagissent aussi à l'attouchement.

Les cinq filets des cynarées sont attachés par leur base au tube de la corolle. Les anthères sont accolées en un tube, à travers lequel passe le style. A l'époque de la maturation du pollen, les filets sont sensibles. Tandis qu'à l'état de repos, ils présentent leur convexité en dehors; ils se dressent, en se raccourcissant, lorsqu'ils subissent un choc ou un attouchement. Les filets n'ont pas de renflement moteur. Tout leur parenchyme, enveloppant le faisceau libéro-ligneux axile, est sensible, et par suite d'une diminution d'eau, il perd la propriété de se dilater quand une cause d'excitation agit sur lui. Il en résulte donc alors une contraction. Pour s'assurer que les filets des cynarées sont sensibles, on se servira du *Centaurea jacea*. On isolera quelques fleurons d'un capitule; on coupera transversalement la corolle, les filets et le style un peu au-dessus de l'insertion des étamines, et on fixera l'appareil sexuel libre à l'aide d'une épingle sur du liège. Après quoi, il sera placé sous une cloche de verre dans une atmosphère humide. Quand la préparation sera guérie, elle deviendra sensible à l'excitation. Les filets libres se courberont à la suite des secousses, et reprendront leur excitabilité quelques minutes après la cessation du mouvement, dans de bonnes conditions extérieures.

198. Les mouvements de variation spontanés.

Chez différentes plantes (*Mimosa*, *Oxalis*, *Trifolium*), on observe des mouvements de variation spontanés dans les feuilles pourvues de renflements moteurs. Ils se produisent par suite de variations, sous l'influence de causes internes, dans la dilatation due à la turgescence des cellules des parties antagonistes des renflements. Pour étudier les mouvements de variations spontanés, nous choisirons des *Trifolium pratense* comme matériaux d'étude. Les plantes seront issues de semences dans un pot de fleurs. Quand les plantes seront arrivées à un degré déjà assez avancé de développement, il conviendra d'écarter les individus délicats et de ne garder pour l'observation que les plus forts. Comme on l'a déjà mentionné, les feuilles de *Trifolium* réagissent très énergiquement par leur mouvement sous l'alternance du jour et de la nuit. Pour éviter le plus complètement possible ces mouvements, portons le pot de fleurs avec le *Trifolium* dans une armoire obscure ou sous une boîte de carton, et nous le laisserons dans l'obscurité jusqu'au jour suivant.

Les observations proprement dites vont alors commencer. De temps en temps, à peu près toutes les demi-heures, nous déterminons la position de certaines folioles de trèfle. Le mieux, c'est de relever leur position à l'aide d'indices. De nombreuses expériences, que j'ai faites à une température d'environ 18° C., m'ont montré que les folioles de *Trifolium pratense* exécutent dans l'obscurité des mouvements de va-et-vient dont l'amplitude atteint environ 90°. Il faut quelques heures pour chaque oscillation.

Les folioles du *Desmodium gyrans*, plante qui est maintenant souvent cultivée en serre, sont douées de mouvements de variation spontanés très énergiques. Ces folioles présentent un mouvement continu sous une température élevée. Elles décrivent une courbe elliptique, dont le grand axe est à peu près parallèle au pétiole commun. J'ai trouvé, par exemple, qu'une foliole latérale décrit un circuit entier en 2 minutes 1/2 par une température de 25° C. Le côté ascendant de la courbe n'était pas parcouru aussi rapidement que le côté descendant.

199. Influence des conditions extérieures sur quelques mouvements de variation.

On a déjà souvent montré l'influence des conditions extérieures sur les mouvements de variation. Nous donnerons ici de nouveaux détails. Pour montrer l'influence de la vapeur d'éther ou de chloroforme sur les renflements du *Mimosa pudica*, je puis recommander, par expérience personnelle, d'opérer de la façon qui va être décrite. Une feuille coupée, dont les folioles ont été rassemblées à la suite d'une faible excitation, est placée avec son pétiole dans un petit verre contenant de l'eau. Ce verre se trouve sur une assiette dans laquelle on a versé de l'éther ou du chloroforme. Après avoir recouvert l'assiette avec une cloche de verre, la plante est soumise à l'action directe de la lumière du soleil. Pendant la narcotisation, qui dure quelques minutes, les folioles s'ouvrent complètement. Mais elles ne sont plus sensibles alors à l'attouchement ou au choc. Leur état de sensibilité revient cependant si l'on porte la feuille de *Mimosa* dans une atmosphère exempte d'éther et de chloroforme, mais contenant beaucoup de vapeur d'eau.

L'expérience suivante est très instructive. La face inférieure du renflement d'un pétiole primaire de *Mimosa* est excitée à de courts intervalles et à diverses reprises à l'aide d'une petite baguette de bois (dans mes expériences, l'excitation durait 5 ou 6 minutes avec des intervalles d'une demi-minute, et la face inférieure du renflement recevait plusieurs coups après chaque demi-minute). Si on abandonne la plante à elle-même sous une cloche de verre, le pétiole primaire, penché, se redresse en quelques minutes. Malgré cela, le renflement ne réagit

plus à l'attouchement. L'organe moteur est devenu insensible à une nouvelle excitation à cause de l'attouchement trop souvent répété, mais il reprend sa sensibilité après un court laps de temps. Les folioles de *Mimosa* étalées sous l'action narcotique de l'éther ou du chloroforme, et le pétiole primaire redressé sous l'action des chocs successifs, ne redeviennent sensibles qu'après quelque temps. Ce fait présente un intérêt particulier. Il montre, notamment, que les causes d'où dépendent le retour de la sensibilité dans les organes foliaires du *Mimosa*, d'une part, et cette sensibilité, d'autre part, ne peuvent être confondues.

Si, pendant un long laps de temps, on n'arrose pas la terre dans laquelle croît un *Mimosa*, et surtout si on laisse la plante soumise aux conditions normales de vie, la sensibilité à la secousse et à l'attouchement diminue de plus en plus dans les folioles par suite du manque d'eau. Dans une expérience que j'ai faite à une température d'environ 20° C., les folioles de *Mimosa* avaient acquis, après 4 jours, une insensibilité complète à l'attouchement. Les folioles rendues rigides par la sécheresse sont ouvertes, elles ne paraissent nullement flétries. Elles reprennent leur excitabilité quand la plante est de nouveau abondamment fournie d'eau.

Si on expose un *Mimosa* à une température inférieure à 15° C. (par exemple 10° C.) pendant quelques heures, la plante devient rigide à cause du froid. La sensibilité à l'attouchement, comme à l'alternance d'éclairage du jour et de la nuit, disparaît. La sensibilité normale revient quand on transporte alors la plante dans un endroit où la température surpasse 15° C.

Lorsqu'il s'agit de mettre le *Mimosa* dans un état de rigidité sous l'action d'une température élevée, on place les plantes dans un thermostat convenable dans lequel règne une température de 40° C. Après une heure environ (à 55° C., en beaucoup moins de temps), on obtient le résultat cherché. Les folioles se sont rassemblées d'elles-mêmes vers le haut sous l'action de la lumière. Des conditions convenables de température ramènent le *Mimosa* à l'état normal en quelques heures.

ADDENDA (1).

§ 7. — Nous donnerons encore quelques explications sur l'emploi du microspectroscope dans les recherches sur le spectre d'absorption de la chlorophylle. Nous travaillerons, par exemple, avec l'oculaire spectral, fourni par Zeiss de Iéna et qui est pourvu d'un prisme de comparaison ainsi que d'un tube gradué. Quelques corps chlorophylliens et des tissus très minces seront déposés sur le porte-objet dans une goutte de glycérine iodée diluée, recouverts d'une lamelle et disposés de la façon habituelle. A l'aide d'une vis, nous rétrécirons l'ouverture aussi fortement que possible, puis nous introduirons seulement alors le prisme dans l'oculaire. La bande I, dans le rouge, et l'absorption continue dans la partie la plus réfrangible du spectre s'aperçoivent alors d'une façon distincte (voy. p. 18). Dans les expériences sur des feuilles entières, sur celles de *Quercus*, par exemple, il suffira de les placer sur la platine du microscope et d'employer un objectif faible. Si nous éclairons l'objet en dirigeant sur lui, à l'aide du miroir du microscope, la lumière diffuse du jour ou la lumière du gaz, nous n'apercevrons plus que les bandes I, II et III du spectre de la chlorophylle. En employant la lumière directe du soleil, les bandes IV et V apparaîtraient aussi, tandis que les bandes VI et VII ne pourraient être distinctement aperçues à cause de la forte absorption terminale. Nous pourrons montrer que les bandes I-V que nous avons observées correspondent bien aux bandes I-V de la solution chlorophyllienne, en nous servant du prisme de comparaison qui reçoit la lumière par un miroir spécial, et en examinant en même temps, à l'aide de ce prisme, une solution alcoolique de chlorophylle. Nous observerons alors une coïncidence presque parfaite dans la position des bandes d'absorption des deux objets; il n'y a de divergence entre le spectre de la solution et celui de la feuille qu'au voisinage du violet, et cette déviation est due au dissolvant employé (alcool).

Pour examiner des solutions alcooliques de chlorophylle à l'aide du microspectroscope, nous placerons ces solutions dans de petits vases à parois planes parallèles ou dans des tubes à réactions pouvant être

(1) Notes adressées par l'auteur pendant l'impression et qui n'ont pu être intercalées dans le corps de l'ouvrage.

placés sur la table du microscope. Les lignes I-IV sont faciles à voir lorsqu'on emploie des solutions concentrées de chlorophylle. Les lignes V-VII ne peuvent être aperçues distinctement que lorsque nous nous servons de solutions très étendues, et que nous opérons à la lumière solaire directe. Pour la détermination exacte de la position des lignes, nous graduerons l'échelle de l'appareil en nous servant des lignes de Frauenhofer.

Pour les lignes I-IV, on peut faire usage de la lumière d'une lampe lorsqu'on effectue, à l'aide d'un grand spectroscope, des recherches de précision sur le spectre d'absorption. Les lignes V-VII ne peuvent être nettement distinguées les unes des autres qu'en travaillant à la lumière solaire directe. Et on obtient les meilleurs résultats en la dirigeant au moyen d'un héliostat sur le collimateur du spectroscope. Afin de pouvoir modifier l'épaisseur de leur couche, rapidement et à volonté, les liquides à examiner seront versés dans de petites boîtes à absorption, à parois planes parallèles, ou dans un haemoscope. On pourra se procurer cet appareil, ainsi que les boîtes, chez R. Muencke, Luisen-Strasse, 58, Berlin N. W.

§ 18. — En cultivant des plantes dans les conditions indiquées dans le § 18, on remarque que les végétaux ne sont pas en état d'assimiler l'azote libre de l'air atmosphérique. Toutefois, dans certaines conditions, cette assimilation est possible, comme nous l'ont montré des recherches récentes, d'une extrême importance, de Hellriegel (1). Tous les végétaux ne montrent pas ce phénomène remarquable, qu'on observe surtout chez les papilionacées. Pour s'en rendre compte, d'une façon générale, on effectuera les expériences qui vont être indiquées. Elles ne donneront qu'en été des résultats satisfaisants.

On recouvre d'une couche, de 3 cm. de hauteur, de fragments de quartz lavés et passés au feu le fond de quelques vases cylindriques en verre de 24 cm. de hauteur et 14 cm. de diamètre, pouvant contenir environ 4-5 kil. de sable. Sur ce quartz, on place une mince couche d'ouate, et on achève de remplir le vase avec du sable quartzeux dont les éléments mesurent, en moyenne, 0,2-0,4 mm. On pourra se procurer un bon sable quartzeux tertiaire aux « Vereinigte Hohen-Bockaer Glassandgruben à Dresde, maison H. Weichelt et C°. » Avant d'être versé dans les vases, le sable subira une préparation. On mélangera 1 kilogramme du sable sec que l'on veut employer, avec 4 gr. de carbonate de calcium, 0 gr., 150 de phosphate acide de potassium, 0 gr. 070, de chlorure de potassium, 0 gr. 070, de sulfate de magnésium (ces trois derniers sels dissous dans 150 c.c. d'eau) et une légère quantité de phosphate ferrique. Le sable, humide, sera ensuite versé dans le vase, où on lui imprimera de temps en temps de légères pressions. Chacun des vases recevra la même quantité de sable.

(1) Voy. Hellriegel, *Zeitschrift d. Vereins f. Rübenzuckerindustrie*, novembre, 1888.

Comme plantes d'étude, on emploiera de l'avoine et des pois. Les semences devront s'être développées très normalement et posséder un poids moyen. Elles seront mises à germer entre des feuilles de papier à filtrer. Douze germinations d'avoine et six de pois seront introduites dans le sable des différents vases. Après un certain temps, on retirera soigneusement de chacun des vases 6 germinations d'avoine et 3 de pois, de manière que des fragments de graines et de racines ne restent pas dans le sable. Les vases resteront donc pourvus alors des 6 germinations d'avoine et des 3 germinations de pois les mieux développées. On les placera au soleil dans un jardin, et on ne leur fournira un abri protecteur que par la pluie et les vents violents ou pendant les journées trop chaudes. Chaque jour, on pèsera les vases afin de pouvoir remplacer l'eau évaporée. Dans ces vases, le sable n'aura donc pas été mélangé de combinaisons azotées. Dans certains autres vases, on versera de la façon qui vient d'être décrite un sable contenant de plus 2 gr.,00, 1 gr.,50, 1 gr.,00, 0 gr.,50 ou 0 gr.,10 de nitrate de calcium (1). Dans le cours de l'été, on observera que les plantes d'avoine qui n'ont point reçu de nitrate de calcium végètent très misérablement, et que le rendement des plantes d'avoine augmente avec la teneur de leur sol en nitrates. Dans les cultures de graines de pois, au contraire, il n'existe pas de relation précise entre la teneur en nitrates et le rendement, ce qui provient de ce que les pois peuvent se développer très vigoureusement dans le sol en l'absence de nitrates.

Ce phénomène remarquable, que présentent les pois, a conduit à supposer qu'ils devaient être en état de se fournir d'azote d'une façon particulière, et les expériences qui vont suivre fourniront quelques renseignements à cet égard. On fera usage de vases ayant les mêmes dimensions que les précédents. Avant d'être employés, ils seront soigneusement lavés à l'aide d'une solution de sublimé (1 pour 1000) et à l'alcool. Les pierres qui serviront au drainage, l'ouate et le sable seront stérilisés par un long séjour sous une température de 150°C. La solution nutritive non azotée sera additionnée de 25 c.c. d'extrait du sol par vase de culture. Cet extrait sera préparé en laissant reposer 8 gr. d'un sol riche en humus avec 100 gr. d'eau (souvent pendant plusieurs heures), jusqu'à ce que la majeure partie du sable et de l'argile se soit déposée. On retirera ensuite 25 c.c. du liquide trouble. Dans quelques essais, ces 25 c.c. seront mélangés directement avec la solution nutritive stérilisée par l'ébullition ; dans d'autres, l'extrait du sol sera au préalable stérilisé. Lorsqu'on aura rempli les vases de sable mouillé à l'aide des solutions nutritives, on recouvrira ce sable d'ouate stérilisée. Celle-ci restera étendue pendant la durée des expériences de culture. Les graines (avoine, pois) ne seront mises à germer qu'après

(1) Ces quantités de nitrate ne doivent pas être ajoutées à 1 kil. de sable, mais à toute la masse de sable de chaque vase.

avoir été stérilisées par une immersion de 2 minutes dans une solution de sublimé (1 pour 1000) et un lavage minutieux dans l'eau bouillie. Les vases de culture seront alors portés au jardin et traités de la façon indiquée plus haut. L'eau distillée qui servira à l'arrosage devra évidemment avoir été stérilisée avant d'être employée. Si on effectue les expériences avec soin, on verra que l'avoine (et les graminées se comportent, en général, d'une façon analogue) végète misérablement dans le terrain sans nitrates, que celui-ci possède ou non de l'extrait du sol stérilisé, ou pas stérilisé, dont la teneur en azote est si minime qu'on peut à peine en tenir compte. Les pois (et d'autres papilionacés se comportent d'une façon analogue) ont un développement très luxuriant dans un sol sans nitrates en présence d'extrait non stérilisé, et leurs racines sont garnies d'un grand nombre de petits tubercules. On obtiendra des données plus précises sur le rendement des plantes en pesant leur moisson. Dans les essais avec de l'extrait stérilisé, on remarquera que les pois sans petits tubercules ont un aspect très misérable. Les pois et d'autres papilionacés peuvent donc, dans certaines circonstances, se développer d'une façon tout à fait normale en l'absence de combinaisons azotées dans le sol. Mais cela n'est possible que lorsque les bactéries ne manquent pas dans le sol et qu'on les lui fournit avec l'extrait. Ces microorganismes, qui vivent en relation symbiotique avec les papilionacées, forment les petits tubercules des racines et possèdent la propriété de rendre l'azote libre de l'air utilisable pour les papilionacées (1).

§ 22. — Dans la partie de ce travail, où il s'est agi de la formation des matières albuminoïdes dans les plantes, on a pu constater que les plantes supérieures pouvaient, non seulement consommer de l'acide nitrique, mais encore de l'ammoniaque. Le § 21 rend compte d'expériences permettant d'établir plus spécialement ce dernier fait. Les plantes de maïs, sur lesquelles on expérimentait, se développaient très bien dans la solution nutritive contenant de l'ammoniaque, indiquée dans ce §; on pourrait aussi recommander l'emploi d'une solution qui, sur 1000 c. c., contiendrait 0 gr., 15 de sulfate de magnésium, 0 gr., 12 de chlorure de calcium, 0 gr. 12, de sulfate de potassium, 0 gr., 50 de phosphate acide d'ammonium, ainsi qu'une légère quantité de chlorure de fer. La solution sera fréquemment renouvelée (à peu près tous les 8 jours). Avant de l'employer, on l'additionnera toujours d'une quantité suffisante d'ammoniaque pour qu'elle n'ait plus qu'une réaction légèrement acide.

Dans le § 22, on a mis en évidence les relations qui existent vraisemblablement entre le phénomène de la production d'albumine, d'une part, et celui de la formation d'oxalate de chaux, d'autre part. Ces relations et surtout la formation d'oxalate de chaux ont été récemment

(1) Autres indications bibliographiques: Frank, *Landwirthschl. Jahrbücher*, 1888, vol. 17, p. 421, et Beyerinck, *Botan. Zeitung*, 1888.

étudiées d'une façon détaillée par Schimper (1), ce qui nous oblige à faire connaître les observations et les expériences qui vont suivre.

Pour relever la présence d'oxalate de chaux dans les feuilles, les matériaux d'étude sont tués par une immersion dans l'eau chaude, puis traités par l'alcool et placés dans une solution d'hydrate de chloral, composée de 8 p. d'hydrate de chloral sur 5 p. d'eau (pour se rendre compte d'une façon générale de la méthode, je recommanderai l'emploi de feuilles, pas trop jeunes, d'*Humulus*). Des fragments de feuilles sont alors examinés au microscope dans la lumière polarisée. Lorsque les nicols sont croisés, les cristaux d'oxalate de chaux se détachent en blanc ou en couleur sur un fond noir, et si les nicols sont parallèles, presque noirs sur un fond blanc.

En examinant de cette façon des jeunes feuilles d'*Ampelopsis,* d'une part, et des feuilles âgées, d'autre part, nous observons dans le parenchyme de nombreux paquets de raphides et à peu près en nombre égal dans les deux cas. Mais la plupart des autres plantes dicotylées, qui ne contiennent pas dans leurs feuilles de l'oxalate de chaux sous forme de raphides, se comportent d'une façon tout à fait différente. Il suffira pour s'en assurer d'examiner des feuilles récemment épanouies et d'autres plus âgées d'*Alnus glutinosa*, d'*Ulmus campestris* et d'*Humulus*. Les feuilles, dans chaque cas, seront cueillies sur des pousses croissant dans l'ombre; ce qui permettra de constater que la quantité d'oxalate va en augmentant avec les progrès de l'âge.

On place une plante vigoureuse, cultivée en pot, de *Pelargonium zonale*, dans un endroit mal éclairé, de manière qu'elle ne puisse point assimiler. Dans le parenchyme des jeunes feuilles, on observe l'existence d'une petite quantité d'oxalate de chaux dont la formation est complètement indépendante de la lumière. Ce sel peut être par conséquent appelé oxalate de chaux primaire. Dans les conditions indiquées, lorsque les feuilles seront développées, la formation d'oxalate de chaux sera interrompue. Mais elle recommencera si les plantes sont soumises à la lumière. Il se produira alors de l'oxalate de chaux secondaire, dont la formation, à l'inverse de ce qui a lieu pour l'oxalate primaire, sera sous la dépendance de la lumière.

Les matériaux servant à la formation de l'oxalate de chaux sont, d'une part, l'acide oxalique produit dans les plantes par leurs transformations chimiques; d'autre part, la chaux absorbée de l'extérieur par leurs racines. Si, à l'aide de l'hydrate de chloral, on rend transparentes des feuilles de plantes de *Polygonum Fagopyrum* cultivées dans une solution nutritive contenant de la chaux, et qu'on les examine ensuite au moyen du microscope de polarisation, on trouvera de grandes quantités d'oxalate de chaux dans leur parenchyme. Le rôle de la chaux dans les plantes est très varié. Il faut toutefois lui attribuer un

(1) Voy. Schimper, *Botanische Zeitung*, 1888.

rôle toujours important dans le phénomène de la végétation, car elle fournit aux plantes de l'azote, du soufre et du phosphore sous forme de nitrates, de sulfates et de phosphates.

Pour ce qui concerne plus spécialement le nitrate de calcium, il est certain que ce sel peut être décomposé dans la plante par l'acide oxalique, pour donner de l'oxalate de calcium et de l'acide nitrique qui est d'une très grande importance pour la production des matières albuminoïdes. Il faut cependant remarquer que, dans certaines conditions, le nitrate de calcium peut aussi se déposer dans la plante. Sur un porte-objet, on place des sections transversales, pas trop minces, de la tige d'*Helianthus tuberosus* et de *Cucurbita* ou de la feuille de *Sambucus nigra* et d'*Helianthus*. Lorsqu'elles seront quelque peu desséchées, on leur ajoutera une goutte d'une solution de 0 gr.,05 de diphénylamine dans 10 c. c. d'acide sulfurique pur. Si les coupes contiennent des nitrates, elles se coloreront en bleu. Dans les expériences sur les feuilles, comme j'ai pu l'observer notamment d'une façon très nette avec le *Sambucus*, on remarque que les plus grosses nervures sont riches en nitrates, tandis que le mésophylle en est très pauvre.

L'expérience qui va suivre donnera la preuve directe que les nitrates peuvent être élaborés dans les plantes. Deux *Pelargonium zonale* en pots sont soustraits à l'action de la lumière. La teneur en nitrates des feuilles des plantes croissant normalement est ordinairement minime ou même nulle. En examinant après 4-6 jours les feuilles des plantes tenues dans l'obscurité, on remarque qu'elles sont devenues très riches en nitrates. Place-t-on maintenant les plantes à la fenêtre de manière qu'elles soient vivement éclairées, après 8-14 jours, les nitrates auront de nouveau complètement disparu des feuilles. Si on traitait de la même façon des *Fuchsia globosa* ou des *Pelargonium zonale*, à feuilles fortement panachées, on constaterait qu'à la lumière, les nitrates n'ont pas disparu des feuilles presque dépourvues de chlorophylle.

Il résulte de là que la décomposition des nitrates est sous la dépendance de la lumière et de la teneur en chlorophylle des feuilles. L'élaboration de l'acide nitrique et la production des matières albuminoïdes, d'après des recherches récentes, ne peuvent avoir lieu dans l'organisme des plantes supérieures que dans les cellules vertes et sous l'action de la lumière. Je suis d'avis qu'il n'existe qu'une relation indirecte entre l'élaboration de l'acide nitrique ou la production d'albumine, d'une part, et l'activité des grains de chlorophylle ainsi que l'éclairage, d'autre part. Dans mon opinion, les produits de l'assimilation (glucose et amidon) ne sont pas en état de former des matières albuminoïdes avec l'acide nitrique. Ce phénomène n'a lieu que lorsque l'acide nitrique agit par l'intermédiaire du protoplasme sur les corps organiques qui se trouvent en quelque sorte à l'état naissant. Cette hypothèse permet d'expliquer la relation indiquée. Le tissu vert des feuilles serait par conséquent l'endroit où s'effectuerait la production d'albumine. L'action de l'acide

nitrique sur les corps organiques non azotés donnerait comme produits intermédiaires des acides amidés et des amides, et les éléments du liber mou des faisceaux libéro-ligneux, surtout les tubes criblés, serviraient au transport des matières albuminoïdes formées.

§ 35. — Pour diverses expériences instructives sur les bactéries, nous emploierons d'abord les spores de *Bacterium Termo.* Nous laisserons des pois se corrompre dans l'eau et nous porterons une goutte du liquide obtenu dans la solution nutritive de Cohn (200 grammes d'eau, 1 gr. de phosphate acide de potassium, 1 gr. de sulfate de magnésium, 2 gr. d'acétate neutre d'ammonium et 0 gr., 1 de chlorure de calcium). En transportant à diverses reprises une goutte infectée dans une nouvelle solution nutritive, nous obtiendrons finalement une culture pure. Les solutions nutritives, d'abord laiteuses et troubles, formeront à leur surface une mince membrane verdâtre (zooglea avec des bactéries en repos). Dans une goutte d'eau contenant des bactéries, déposée sur un porte-objet et recouverte d'une lamelle, nous observerons sous un fort grossissement des spores animées d'abord d'un vif mouvement. Par suite de la nécessité qu'elles éprouvent d'avoir de l'oxygène, elles seront bientôt rassemblées au bord de la lamelle, et reviendront peu à peu à l'état de repos. Si nous portons, en plus des bactéries, un filament d'algues dans la goutte du liquide, nous remarquerons que le mouvement des bactéries sera interrompu aussi longtemps que la lumière agira sur les corps chlorophylliens et que ceux-ci pourront assimiler. Les champigons se réuniront dans le voisinage immédiat du filament, et ce mouvement fournira la preuve qu'il y a production d'oxygène pendant l'assimilation (Engelmann, Pfeffer).

Pfeffer a montré que le *Bacterium Termo* n'est pas seulement susceptible de mouvements provoqués par l'action de l'oxygène, mais encore par celle d'autres corps. Le *Bacterium Termo* n'est pas seulement trophotropique, mais encore aérotropique. Nous déposerons une goutte d'eau contenant des bactéries sur un porte-objet, et nous la recouvrirons d'une lamelle reposant sur un petit morceau de carton, afin que les bactéries ne soient pas privées d'oxygène. Puis nous introduirons sous la lamelle la pointe d'un fin capillaire contenant une solution d'asparagine ou d'extrait de viande. Les bactéries pénétreront bientôt dans le capillaire, et, après 2-5 minutes, l'ouverture de ce tube sera complètement bouchée par des bactéries. Plus tard, les bactéries se sépareront, car la substance nutritive se répandra de plus en plus par diffusion.

FIN.

TABLE DES FIGURES.

TABLE DES MATIÈRES.

PREMIÈRE PARTIE.

PHYSIOLOGIE DE LA NUTRITION.

PREMIÈRE DIVISION.

LES ALIMENTS DES PLANTES.

I. L'assimilation.

Pages.

II. Formation des matières albuminoïdes dans les plantes.

III. Les éléments constituants des cendres végétales.

IV. Des combinaisons organiques, comme aliments pour les végétaux.

DEUXIÈME DIVISION.

LES FORCES MOLÉCULAIRES DES PLANTES.

I. Les productions organisées les plus importantes des cellules végétales.

II. Destruction de la structure moléculaire des formations végétales organisées.

III. Les actions moléculaires élémentaires dans les plantes.

IV. Circulation des gaz dans les plantes.

V. Absorption de l'eau par les plantes.

VI. Circulation de l'eau dans les plantes.

VII. Absorption des matières minérales par les plantes.

TROISIÈME DIVISION.

LES TRANSFORMATIONS CHIMIQUES DANS L'ORGANISME VÉGÉTAL.

I. Le rôle des combinaisons azotées.

II. La respiration des plantes.

III. Le rôle des matières plastiques non azotées des plantes.

IV. Les produits accessoires des transformations chimiques dans les végétaux.

V. Circulation des matières plastiques dans les plantes.

DEUXIÈME PARTIE.

PHYSIOLOGIE DE LA CROISSANCE ET DES MOUVEMENTS DUS A LA SENSIBILITÉ.

QUATRIÈME DIVISION.

LES MOUVEMENTS DUS A L'ACCROISSEMENT DES PLANTES.

I. Les propriétés des organes végétaux en voie de croissance et les mouvements déterminés par des causes internes de croissance.

II. Conditions nécessitées par la croissance et influence des actions extérieures sur l'accroissement.

CINQUIÈME DIVISION.

LES MOUVEMENTS PROVOQUÉS PAR LA SENSIBILITÉ DES PLANTES.

I. Les mouvements provoqués des productions protoplasmiques.

II. Les nutations géotropiques, héliotropiques, hydrotropiques et quelques autres phénoménes dus à la sensibilité.

III. L'enroulement des vrilles et des plantes volubiles.

IV. La dorsiventralité, la polarité et l'anisotropie des organes des plantes. Les phénomènes de corrélation dans le règne végétal.

V. Les mouvements de variation des plantes.

ERRATUM.

Page 262, 15e ligne, au lieu de *chlorate*, lisez *bichromate*.

